N° d'ordre : 260 Année scolaire : 1969-1970

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Claude SUIRE

ATTACHÉ DE RECHERCHE AU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
DOCTEUR EN BIOLOGIE VÉGÉTALE

Recherches cytologiques sur deux Hépatiques :
***Pellia epiphylla* (L.) Corda (Metzgériale) et *Radula complanata* (L.) Dum. (Jungermanniale).**
Ergastome, sporogénèse et spermatogénèse.

Soutenue le 14 avril 1970, devant la Commission d'Examen :

MM.	J. EYMÉ, Professeur.....	*Président*
	P. DANGEARD, Professeur honoraire, Membre de l'Institut.....	*Examinateurs*
	J. SÉCHET, Professeur.....	
	J. VINDT, Professeur.....	
Mme	J. VAZART, Maître de recherche au C.N.R.S.	

— 1970 —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543508_0001

N° d'ordre : 260

Année scolaire : 1969-1970

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Claude SUIRE

ATTACHÉ DE RECHERCHE AU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
DOCTEUR EN BIOLOGIE VÉGÉTALE

Recherches cytologiques sur deux Hépatiques :
***Pellia epiphylla* (L.) Corda (Metzgériale) et *Radula complanata* (L.) Dum. (Jungermanniale).**
Ergastome, sporogénèse et spermatogénèse.

Soutenue le 14 avril 1970, devant la Commission d'Examen :

MM.	J. EYMÉ, Professeur.....	*Président*
	P. DANGEARD, Professeur honoraire, Membre de l'Institut.....	*Examinateurs*
	J. SÉCHET, Professeur.....	
	J. VINDT, Professeur.....	
Mme	J. VAZART, Maître de recherche au C.N.R.S.	

— 1970 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE

DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

Doyens honoraires : M. BRUS
M. CALAS

Doyen : M. VALADE

Professeurs Honoraires :

M. KASTLER ..... Professeur à la Sorbonne
M. PISOT ..... Professeur à la Sorbonne
Mlle JOSIEN ..... Professeur à la Sorbonne
M. MILLOUX
M. DANGEARD
M. CAU
M. GENEVOIS
M. SCHOELLER
M. AVEL

Professeurs :

M. ROUSSET	Physique générale
M. ROGER	Mécanique rationnelle
M. WEILL	Anatomie comparée et embryogénie
M. DUFRESNOY	Mathématiques générales
M. LAFON	Physiologie générale
M. BOUNHIOL	Biologie animale
M. SERVANT	Physique
M. CALAS	Chimie organique
M. GAY	Cristallographie et minéralogie
M. PACAULT	Chimie physique
M. DAVID	Physiologie végétale
M. BLAIZOT	Physiologie de la nutrition
M. COLMEZ	Méthodes mathématiques de la physique
M. CAMBAR	Biologie animale
M. VIGNEAUX	Géologie
M. PANOUSE	Zoologie
M. ARZELIES	Physique (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. RIBEREAU-GAYON	Oenologie et chimie agricole
M. RISS	Mathématiques
M. GUIZONNIER	Physique
M. HAGET	Zoologie expérimentale
M. SEMIROT	Astronomie
M. CHASTEL	Physique nucléaire
M. HAGENMULLER	Chimie minérale
M. CREAC'H	Biologie animale

M. LOUDETTE	Mécanique physique
M. PATY	Chimie
M. BORDES	Préhistoire
M. SECHET	Botanique
M. BAGANAS	Mathématiques
M. VALENTIN	Radioélectricité
M. ENNOUCHI	Géologie
M. EYME	Botanique
M. RUAMPS	Physique électronique
M. FRAINNET	Chimie organique
M. HOARAU	Chimie physique
M. MARCHAND	Chimie
M. LALANDE	Chimie appliquée
M. GOTTIS	Géologie dynamique
M. LEMANCEAU	Chimie
M. CARDO	Psychophysiologie
M. ROCH	Physique
M. BELLON	Chimie (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. CLASTRE	Cristallographie physique
M. JOUSSOT-DUBIEN	Chimie
M. VALADE	Chimie organique
M. SURDIN	Automatique
M. LABOUESSE	Biochimie
Mlle LAFFITTE	Physique
M. CLIN	Géologie
M. DESTRIAU	Chimie
M. BOTHOREL	Chimie
M. BLONDEL	Mathématiques
M. LASCOMBE	Chimie
M. RIMPAULT	Physique théorique
M. ANDRE	Zoologie et physiologie animale
M. SOURISSEAU	Chimie
M. LOCHET	Physique
M. VINDT	Biologie végétale
M. REGNIER	Mathématiques
M. PETIT	Physique corpusculaire
M. BARAUD	Chimie biologique
M. EMBERGER	Géologie
M. CHARRU	Physique
M. SIMONOFF	Chimie physique
M. BARETS	Biologie animale
M. PINEAU	Chimie
M. LEVEQUE	Géologie approfondie
M. BOUSSEAU	Physique
M. MENNRATH	Physique
M. BOUAS-LAURENT	Chimie organique
M. RIBEREAU-GAYON P.	Chimie oenologie
Mlle DUTRIEU	Physiologie animale

M. MOYES	Géologie
M. N.	Calcul infinitésimal
M. N.	Informatique
M. AUROUZE	Hydrogéologie

Maître de conférences honoraire :

M. DE PUYMALY

Maîtres de conférences :

Mme PETIT	Physique
M. BERNET	Génétique
M. FRESNEL	Mathématiques
M. LUTZ	Botanique
M. MOULINES	Chimie
M. POUCHARD	Chimie minérale
M. SARDOS	Physique
M. DUMERY	Mécanique
M. DRESS	Mathématiques
M. GARNIER	Biophysique
M. MENDES-FRANCE	Mathématiques
M. LESCA	Mathématiques
M. ARTOLA	Mathématiques
M. MARTINET	Mathématiques
M. BOUARD	Biologie végétale
M. MINNAERT	Physique théorique
M. ABGRALL	Physique théorique
M. BOISSEAU	Biologie générale
M. NASLAIN	Chimie minérale
M. ONILLON	Chimie minérale
M. HOGBE	Mathématiques

Conseiller Administratif :

M. LLORENS.

—oOo—

Le présent mémoire, que nous présentons comme Thèse de Doctorat es Sciences Naturelles, est le fruit de plusieurs années de travail au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Bordeaux. Avant d'exposer nos résultats, il nous est agréable de remercier les Membres de notre Jury ainsi que tous ceux qui nous ont apporté leur aide au cours de nos recherches. Monsieur le Professeur J. EYMÉ fut à notre égard d'une sollicitude de tous les instants et nous a témoigné en maintes circonstances une confiance dont nous nous sentons particulièrement honoré ; pour tout ce qu'il a fait pour nous, nous tenons à lui exprimer nos sentiments de profonde gratitude et notre sincère attachement. Monsieur le Professeur P. DANGEARD, Membre de l'Institut, a manifesté un grand intérêt pour nos recherches et encouragé leur poursuite ; de plus, il a accepté de publier ce mémoire dans la revue "Le Botaniste", dont il est Directeur. Nous le prions de trouver ici l'expression de notre vive reconnaissance. Nos remerciements vont également à Monsieur le Professeur J. SÉCHET, qui nous a toujours réservé le meilleur accueil et avec lequel nous avons eu de nombreux échanges de vues profitables. Nous n'oublions pas la sollicitude avec laquelle Monsieur le Professeur J. VINDT, Directeur de l'Unité de Biologie, a examiné notre travail et nous l'en remercions. Nous prions Madame J. VAZART, Maître de Recherche au Centre National de la Recherche Scientifique, de trouver ici le témoignage de notre profonde

reconnaissance pour l'attention avec laquelle elle a suivi nos travaux avant d'accepter de faire partie du Jury de notre thèse.

Nous nous sentons redevable de la bienveillance que nous ont manifesté Monsieur le Directeur Général du Centre National de la Recherche Scientifique ainsi que les Membres de la Commission de Biologie et Physiologie végétales et nous leur exprimons notre respectueux dévouement. Notre reconnaissance va également à Monsieur le Professeur M. CHADEFAUD, qui fut notre Parrain au Centre National de la Recherche Scientifique et suivit nos travaux avec une sollicitude qui nous oblige.

Nous n'oublions pas l'intérêt qu'a manifesté pour nos recherches Monsieur le Professeur R. CAMBAR, Directeur de l'Institut de Microscopie électronique de Bordeaux ; il a mis à notre disposition les appareils qui nous ont permis de les mener à bien et nous lui en sommes profondément reconnaissant. C'est pour nous un agréable devoir de rappeler avec quelle amabilité Monsieur le Professeur R. LALANDE nous a accueilli dans son Laboratoire et nous a permis de bénéficier des installations de l'Institut du Pin ; nous espérons que sa collaboration, ainsi que celle de Monsieur et Madame G. BOURGEOIS, pourra se poursuivre avec autant de profit dans l'avenir.

Enfin, nous remercions également tous ceux qui, à des titres divers, nous ont apporté leur aide ou leur soutien dans la réalisation de ce travail, en particulier Mademoiselle GUILBAUD, Messieurs BARRE, PANZERI, SALAT et VODICHON, ainsi que nos collègues du Laboratoire de Botanique ou de l'Institut de Microscopie électronique.

*

* *

RECHERCHES CYTOLOGIQUES sur DEUX HEPATIQUES : PELLIA EPIPHYLLA (L.) CORDA (Metzgériale) et RADULA COMPLANATA (L.) DUM. (Jungermanniale). ERGASTOME, SPOROGENESE et SPERMATOGENESE.

---oOo---

P R E M I E R E P A R T I E

INTRODUCTION et TECHNIQUES

---oOo---

C H A P I T R E I

INTRODUCTION

---oOo---

L'embranchement des Bryophytes est l'objet de très nombreuses recherches depuis le XVIIIe siècle et les organes de ces Cryptogames ont été progressivement étudiés tant du point de vue embryologique que cytologique ou chimique. Le présent mémoire est une contribution cytologique à la connaissance de l'ergastome, de la sporogénèse et de la spermatogénèse chez deux Hépatiques.

Dans cette introduction, nous nous proposons de préciser les résultats essentiels acquis chez les Bryophytes sur chacun des sujets que nous avons retenus. Un compte-rendu plus détaillé des travaux antérieurs effectués sur les Hépatiques est présenté en tête de chacune des seconde, troisième et quatrième parties de notre mémoire ; les recherches ultrastructurales sur les Bryophytes sont analysées dans les discussions qui suivent l'exposé de nos propres résultats.

I - L'ERGASTOME :

Remarqués dès 1834, les oléocorps des Hépatiques font l'objet, au cours du XIXe siècle, de nombreuses investigations ; la possibilité de les observer au microscope photo-

nique par simple montage de fragments de thalle ainsi que la facilité de repérer l'action de divers agents chimiques sur eux, en font un matériel favorable à l'observation des productions du cytoplasme. Les travaux qui leur sont consacrés mettent en lumière une grande diversité d'opinions, aussi bien à propos de leur nature chimique que de leur origine.

L'oléocorps se présente en observation vitale comme une suspension de globules dans une substance de nature physique différente. Certains chercheurs, W. PFEFFER (1874) par exemple, ont pensé que la limite de l'oléocorps n'était qu'un artefact de coagulation et qu'en conséquence cette formation résultait de l'accumulation de gouttelettes dans certaines régions du cytoplasme ; d'autres, comme A.J.M. GARJEANNE (1903), ont soutenu que l'oléocorps était une enclave limitée par une paroi propre. De récentes recherches en microscopie électronique montrent que l'oléocorps est limité par une membrane tripartite, mais les chercheurs ne sont pas d'accord sur son interprétation : J.L. VERDIER (1965) la considère comme identique à la paroi vacuolaire, tandis que Mlle K. PIHAKASKI (1966_1968) met en évidence une structure distincte de celle du tonoplaste.

La nature chimique des globules de l'oléocorps et celle de sa substance interstitielle ont été diversement interprétées : c'est ainsi que les globules, considérés par les premiers chercheurs comme des grains d'amidon ou des cristaux d'inuline, ont été identifiés par la suite à des corps de nature cireuse, résineuse, essentielle ou lipidique ; la substance interstitielle a été tour à tour considérée comme une solution saline, une solution de tanins, un stroma albumineux ou protéique, une substance lipidique ou une essence. D'autre part, les tissus frais traités par des méthodes adéquates livrent à l'analyse une essence constituée de carbures terpéniques et sesquiterpéniques, seuls ou mélangés aux alcools correspondants ; P. DOMBRAY (1926) caractérise en outre des tanins. Des analyses d'essences extrai-

tes de thalles, pratiquées à l'aide de techniques modernes par S. HUNECK et coll. (1963-1967), ont mis en évidence, d'une part, deux azulènes chez Calypogeia trichomanis et, d'autre part, un sesquiterpènes ainsi que l'alcool correspondant chez une autre Jungermanniale, Scapania undulata.

L'origine de l'ergastome n'est pas moins controversée : les oléocorps sont considérés comme des accumulations de gouttelettes dans des régions particulières du cytoplasme, aussi bien par W. PFEFFER (1874) que par B. SLAVIK (1950) ; A.J.M. GARJEANNE (1930) et J.L. VERDIER (1965) les considèrent comme des vacuoles, tandis qu'ils constituent pour P. GAVAUDAN (1930) un système particulier d'origine cytoplasmique ; le même auteur et coll. (1960) suggère que le "système ergastoplasmique" ou un "système microsacculaire" est lié à leur genèse, alors qu'ils résultent selon Mlle K. PIHAKASKI (1968) de l'englobement de corps intracytoplasmiques par du hyaloplasme et une membrane.

Ce bref exposé montre que l'accord des chercheurs ne se réalise sur aucun point. Néanmoins, à la lumière des recherches les plus récentes, l'oléocorps doit être considéré comme une enclave limitée par une membrane tripartite et contenant une essence. Nous avons soutenu en 1966 que l'ergastome était un système particulier à la cellule des Hépatiques, différent du vacuome. Les recherches que nous avons effectuées depuis nous permettent de nous prononcer sur l'origine et l'évolution structurale de ce système, ainsi que sur la composition chimique du contenu des oléocorps de Radula complanata.

II - LA SPOROGENESE :

A la fin du siècle dernier, les chercheurs se préoccupent du contenu des éléments sporogènes. Chez les Hépatiques,

la méiose est observée pour la première fois en 1893 par J.B. FARMER, qui en donne une étude plus complète en 1895. Cette découverte provoque un engouement pour les études caryologiques et, pendant plus de vingt ans, le noyau sera pratiquement le seul constituant cellulaire dont les modifications seront suivies au cours de la sporogénèse.

Au début de ce siècle, les travaux inspirés par la sporogénèse des Mousses sont moins nombreux que ceux effectués sur les Hépatiques, qui font l'objet de publications développées de la part de chercheurs comme D.H. CAMPBELL, R. FLORIN, A.W. HAUPT, K. MEYER et J.B. FARMER. Ce dernier auteur décrit chez diverses Hépatiques la formation dans les sporocytes, au cours de la méiose, d'un "fuseau à 4 pôles" ; à la suite de B.M. DAVIS (1901), nous nous sommes opposé à cette conception (1966) et avons précisé que les étirements du noyau qui se forment au début de la méiose chez Radula complanata n'ont aucun rapport avec les deux fuseaux orthogonaux de la seconde division méiotique.

Chez les Hépatiques, deux types de cellules (les sporocytes et les élatères) se différencient à partir du tissu archésporial ; dès leur formation, les sporocytes acquièrent une forme tétralobée et conservent durant toute leur évolution de nombreux plastes ovoïdes. Chez les Mousses, l'archesporium n'est à l'origine que de sporocytes ; le nombre des plastes se réduit au cours du cloisonnement des cellules archésporiales, de sorte que chaque sporocyte ne contient qu'un seul plaste, déformé en une mince calotte ; le plaste se bipartit en quatre éléments laminés et la cellule acquiert une forme tétralobée.

L'évolution de la zone sporogène des Mousses, telle que nous venons de la rappeler, est déduite des travaux de A.A. SAPEHIN (1911-1913), E. MELIN (1915), T.E. WEIER (1930) et J. EYMÉ (1953). Ces auteurs montrent que le chondriome et le

plastidome sont des systèmes cellulaires indépendants chez les Bryophytes ; le dernier d'entre eux observe, en outre, que le chondriome se fragmente dans les sporocytes et que les éléments granuleux qui résultent de ce phénomène se rassemblent au voisinage du plaste "foliacé". Ces conclusions sont confirmées par les travaux effectués en microscopie électronique (L. GENEVÈS, 1966 b ; J. EYMÉ et C. SUIRE, 1969). La complexité de l'évolution plastidiale a été la cause d'interprétations divergentes ; c'est ainsi que la lamination caractéristique du plaste des Mousses entraîne J. MOTTE (1928) à supposer son retour à l'état indifférencié sous forme de mitochondries.

La sporogénèse des Mousses est donc connue dans son ensemble, alors que celle des Hépatiques n'a fait l'objet d'aucune recherche en microscopie électronique. C'est cette remarque qui, après nous avoir incité à prêter une attention particulière à l'observation en microscopie photonique des constituants cytoplasmiques des cellules sporophytiques, nous a déterminés par la suite à entreprendre l'étude de leur évolution structurale ; les résultats obtenus sur le tissu sporogène sont exposés dans la troisième partie de ce travail.

III - LA SPERMATOGENESE :

Au cours de la spermatogénèse, les cellules anthéridiales des Bryophytes, polyédriques dans la jeune anthéridie, acquièrent progressivement la forme d'un cordon hélicoïdal. Les profondes modifications qui s'opèrent au niveau de tous les systèmes cellulaires font que certains d'entre eux présentent à divers stades une morphologie inhabituelle ; les

nombreuses controverses soulevées par l'étude de la spermatogénèse sont autant imputables à ce fait qu'à la taille réduite des éléments cellulaires et aux possibilités limitées de l'optique microscopique.

C'est ainsi que les premiers chercheurs (parmi lesquels E. STRASBURGER, 1869) ne reconnaissent pas la nature nucléaire du constituant principal des spermatozoïdes ; l'interprétation exacte semble avoir été donnée pour la première fois par E. ZACHARIAS en 1881. L'évolution du chondriome et du plastidome a été l'occasion de nombreux errements : C.E. ALLEN (1908) ne reconnaît pas le seul élément plastidial qui subsiste dans les spermatides et l'assimile à la condensation d'un cytoplasme particulier, tandis que M. WILSON (1911) y voit une extrusion nucléolaire. A.A. SAPEHIN (1913) a suivi la réduction du nombre des plastes dans les cellules spermatogènes de Funaria ainsi que les modifications de ce constituant jusque dans le spermatozoïde. Quinze ans plus tard, J. MOTTE reconnaît les plastes dans les jeunes cellules spermatogènes, mais interprète leurs transformations ultérieures comme un retour à la forme mitochondriale. P. GAVAUDAN (1930) suit le devenir du plaste au cours de la spermatogénèse de Marchantia polymorpha et se montre partisan, comme A.A. SAPEHIN, de l'indépendance du chondriome et du plastidome. T.E. WEIER (1931) adopte cette idée et tente chez les Mousses une interprétation structurale des éléments plastidiaux qui n'est pas confirmée par la suite. Presque oubliées pendant une vingtaine d'années, les Mousses font l'objet de nouvelles investigations vers 1950 et permettent à J. EYMÉ (1953) de montrer la continuité plastidiale depuis les jeunes cellules spermatogènes jusqu'au spermatozoïde ; cet auteur suit la raréfaction des plastes et l'établissement d'un système monoplastidié dans chaque cellule, ainsi que la déformation en calotte de cet élément unique ("plaste

foliacé") et sa bipartition dans les dernières générations cellulaires. Les recherches ultrastructurales pratiquées sur le plaste foliacé de Pogonatum (D.J. PAOLILLO et coll., 1965, 1968 ; L. GENEVES, 1967 b) et de Bryum (E.J. BONNOT, 1967 a) confirment ces vues et apportent des données fondamentales sur l'évolution du plastidome et du chondriome : les mitochondries fusionnent en un unique "Nebenkern" dont une extrémité s'accolle au noyau et participe à la formation du corps apical, tandis que l'autre se modèle à la surface du plaste et participe à la formation du corps basal. Ainsi que nous le montrons dans la quatrième partie de ce travail, les phénomènes sont comparables chez Pellia epiphylla.

Le problème de la constitution du corps basal n'est pas le seul exemple d'une question non résolue en microscopie photonique. La présence ou l'absence de "centrosomes" fut aussi sujet de controverse, divers auteurs opérant sur les mêmes espèces aboutissant à des conclusions différentes : chez Marchantia polymorpha par exemple, S. IKENO (1903) reconnaît des centrosomes au cours de toutes les divisions spermatogènes, alors que Y. ESCOYEZ (1907) ne les caractérise dans aucune, mais voit apparaître dans la spermatide un granule qui évolue en un élément allongé, le "blépharoplaste". Celui-ci est décrit comme une bande sidérophile qui apparaît au voisinage du noyau et s'allonge à sa surface. Pour plusieurs chercheurs (S. IKENO entre autres), le blépharoplaste dérive directement du centrosome ; chez Mnium hornum, M. WILSON (1911) suggère qu'il représente l'évolution d'une fraction du nucléole extruse dans le cytoplasme. Par opposition aux chercheurs qui conçoivent le blépharoplaste comme une unité structurale, d'autres, comme

J. EYMÉ, lui attribuent une origine mixte et y voient le résultat de l'accolement des bases flagellaires avec un corps allongé de nature plastidiale. Les recherches en microscopie électronique ont en partie confirmé ces vues : le blépharoplaste est la partie Feulgen-négative et sidérophile du complexe apical, résultant de l'agrégation de l'extrémité antérieure du noyau, du corps mitochondrial apical, des deux cinétosomes et d'une formation à la fois tubulée et périodique, trisériée chez les Mousses (D.J. PAOLILLO et coll. 1965-1968 ; E.J. BONNOT, 1967 a), tétrasériée chez les Hépatiques (Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER, 1967-1968) ; les tubules qui constituent la couche supérieure de cette formation se prolongent le long du noyau chez tous les Bryophytes étudiés.

Ce bref exposé montre que la spermatogénèse des Mousses est mieux connue que celle des Hépatiques, chez lesquelles aucun travail d'ensemble n'a vu le jour. Cette lacune nous a incité à étudier l'évolution ontogénique du tissu spermatogène jusqu'au gamète mâle achevé et nous avons choisi dans ce but une Hépatique Metzgériale, Pellia epiphylla.

*

* *

Dans cette introduction, nous avons brièvement présenté les directions de recherches qui ont été retenues. Chacune des grandes parties de ce mémoire est consacrée à l'exposé de nos résultats et à leur discussion face aux autres travaux.

Nous nous sommes efforcé de reconstituer l'évolution des structures au cours des phases du développement, mais également d'en discuter la signification compte tenu des données fondamentales de la Cytologie des autres groupes végétaux ou animaux.

*

* *

C H A P I T R E II

TECHNIQUES UTILISEES

---oOo---

I - Techniques utilisées pour l'étude en microscopie photonique :

1°)- L'ergastome :

Les fixateurs osmiques sont ceux qui conservent le mieux le contenu des ergastosomes ; la formule de CHAMPY (Arch. Anat. micros. 1911 ; 13 ; p. 59) en particulier donne des résultats satisfaisants.

Les objets sont lavés 12 à 24 heures à l'eau courante puis déshydratés par l'éthanol. L'emploi du xylène ou du benzène comme liquide intermédiaire entre l'éthanol et la paraffine est à éviter ; l'essence de cèdre (qualité spéciale pour éclaircissement) donne de bien meilleurs résultats.

Les coupes sont colorées dans une solution d'hématoxyline (formule de Regaud) après mordançage dans une solution aqueuse d'alun de fer ammoniacal à 4 %.

2°)- La sporogénèse :

L'imperméabilité des cuticules des sporogones et de leurs enveloppes protectrices nécessite, avant fixation, une mise à nu des capsules. Une mince calotte est détachée afin de faciliter la pénétration des agents fixateurs ; les capsules blessées sont plongées dans le fixateur, puis dégazées pendant une minute environ.

Un certain nombre de fixateurs ont été utilisés. La formule de NAWASCHIN donnée par P. DANGEARD (Le Botaniste, 1937 ; 28 ; p. 306) et celle d'HAMANT (thèse 1953, p. 11) donnent satisfaction pour l'étude du noyau ; celle de Champy nous paraît la meilleure pour l'étude du cytoplasme. Les objets sont lavés 12 à 24 heures à l'eau courante, déshydratés et inclus le plus souvent suivant un procédé mixte collodion-paraffine (C. SUIRE, 1964).

Les coupes sont en général colorées à l'hématoxyline après mordançage dans une solution d'alun de fer.

3°)- La spermatogénèse :

La formule de NAWASCHIN est satisfaisante pour l'étude du noyau. La meilleure conservation des organites cytoplasmiques est obtenue avec les fixateurs qui donnent de bons résultats en microscopie électronique, par exemple la solution de glutaraldéhyde dans un tampon phosphate, suivie d'une postosmification. L'inclusion mixte collodion-paraffine n'est pas nécessaire. La coloration des coupes à l'hématoxyline est plus facile après un blanchiment modéré dans l'eau oxygénée à 2 volumes. Des résultats intéressants peuvent être obtenus avec certains colorants de synthèse (safranine ou fuchsine acide par exemple, seuls ou en combinaison avec un colorant bleu ou vert).

II - Techniques utilisées pour l'étude en microscopie électronique :

1°)- Remarques sur les méthodes de fixation :

Les objets sont découpés en lames d'épaisseur inférieure au millimètre, plongés dans le fixateur et dégazés. Certaines pièces pourvues d'une cuticule cireuse plongent mieux et se fixent d'une manière plus homogène si l'on ajoute 1/10.000 au maximum d'agent mouillant (par exemple, agent KODAK Photo-Flo).

Aucun fixateur ne conserve fidèlement la structure de la totalité des tissus à tous les stades de leur évolution. Le choix de la meilleure formule de fixation ne peut se faire que par essais successifs. On peut dégager de ces essais quelques critères généraux, valables pour tous les tissus étudiés.

A - Une cellule est jugée bien fixée lorsque le volume du cytoplasme paraît normal, que le maximum de structures cytoplasmiques est conservé et que les organites cellulaires ne montrent pas de déformations.

B - La fixation par une solution de glutaraldéhyde suivie d'une postosmification permet dans l'ensemble la meilleure conservation du maximum d'ultrastructures.

Les solutions de glutaraldéhyde commercialisées sous diverses marques peuvent donner des résultats très différents, ce qui est vraisemblablement dû à la quantité et à la nature des impuretés qu'elles contiennent.

Une imprégnation complémentaire par l'acétate d'uranyle permet dans certains cas d'obtenir des images plus dépouillées car les cytoplasmes apparaissent moins denses aux électrons et les systèmes lamellaires mieux définis. Nous avons obtenu les résultats les plus satisfaisants en employant la technique préconisée par J.A. TERZAKIS (1968) qui consiste à imprégner les tissus par une solution d'acétate d'uranyle avant leur déshydratation et leur inclusion.

C - Le minimum de déformation est atteint lorsque le pouvoir osmotique du fixateur est convenable. Plusieurs remarques peuvent être faites à ce sujet :

a)- Une évaluation de la pression osmotique de certaines solutions peut se faire à l'aide des renseignements donnés par M.D. MASER et coll. (1967).

b)- L'influence de l'osmolalité du fixateur sur la qualité de la fixation peut être déduite d'estimations comparées de la compacité du cytoplasme et de l'écartement des deux feuillets de la membrane nucléaire ou de la membrane mitochondriale par exemple (voir à ce sujet H.D. FAHIMI et P. DROCHMANS - 1965).

c)- La tolérance des tissus aux variations de pression osmotique est variable. Elle est souvent meilleure dans les cellules jeunes que dans les cellules âgées. Elle est faible au cours de certains stades évolutifs de la cellule, en particulier lors de la méiose.

d)- Les tissus les plus faciles à fixer sont les tissus méristématiques moyennement hydratés. Il est difficile par contre de fixer sans contraction des cellules très hydratées (à vacuoles volumineuses et suc vacuolaire très dilué) ou bien des

cellules très déshydratées (spermatozoïdes par exemple). Ces difficultés ne sont pas dues aux mêmes causes : dans le premier cas, il faut chercher à constituer un fixateur de faible osmolalité, ce qui est difficilement réalisable avec le glutaraldéhyde. Dans le second cas, certains échecs sont vraisemblablement imputables à une mauvaise pénétration du fixateur dans les cellules à cytoplasme très dense.

e)- Il est facile d'augmenter l'osmolalité d'un fixateur en augmentant la concentration des sels du tampon ou celle du glutaraldéhyde. On peut également ajouter à la solution un corps inerte fortement osmotique, un ose par exemple. Il est plus difficile de diminuer l'osmolalité d'une solution, surtout avec le glutaraldéhyde, doué d'un fort pouvoir osmotique ; il faut en effet conserver un minimum de concentration en substance fixatrice pour obtenir une bonne préservation des structures et veiller à la teneur en sels dissous afin de réaliser l'effet tampon souhaité.

f)- Le saccharose ou le glucose n'agissent pas seulement en augmentant l'osmolalité de la solution : leur adjonction semble faciliter la pénétration du fixateur car ils améliorent dans certains cas la qualité de la fixation sans provoquer de contractions (cas des spores par exemple).

g)- Les tissus demeurent sensibles aux variations de pression osmotique après leur préfixation par le glutaraldéhyde (D. SABATINI et coll., 1963) ; il faut donc les laver dans un tampon et, si le besoin s'en fait sentir, compenser l'osmolalité du glutaraldéhyde par celle d'une autre substance.

Dès leur noircissement dans la solution osmique, les tissus deviennent insensibles à ces variations : le lavage

qui suit l'imprégnation osmique peut donc se faire dans un tampon ou dans l'eau.

D - La température de fixation est un autre facteur important de succès : la fixation à basse température (4 à 8° C) diminue la vitesse de pénétration du fixateur mais provoque moins de désorganisation que la fixation à température ambiante (20 à 25°C).

E - Une prolongation excessive de la fixation est souvent la cause d'une granulisation du cytoplasme avec le glutaraldéhyde ou bien d'une trop forte imprégnation du cytoplasme en osmium, puis d'une disparition de certains composés avec les solutions osmiques.

F - La nature du tampon a une influence sur la qualité de la fixation. Le tampon à la s-collidine préconisé par H.S. BENNETT et J.H. LUFT (1959) provoque constamment une extraction considérable ; les tampons contenant de l'acide chlorhydrique (Michaelis ou cacodylate par exemple) sont vraisemblablement les causes d'extractions plus ou moins prononcées. Le tampon qui permet en général la meilleure préservation de notre matériel contient un phosphate de sodium et un phosphate de potassium (S.P.L. SORENSEN - 1909).

G - Le pH du tampon ne nous a pas paru avoir d'influence sur la qualité de la fixation lorsqu'on opère au voisinage de la neutralité (pH 6,7 à 7,3). Il est possible que certaines altérations attribuées au pH soient en réalité dues à un déséquilibre ionique car les proportions relatives des ions libres varient lorsqu'on modifie les proportions des solutions mères pour obtenir un tampon de pH différent.

2°)- Techniques de fixation utilisées :

A - Les éléments de l'ergastome :

a)- Une conservation satisfaisante des ergastosomes peu évolués est obtenue après préfixation, pendant 90 minutes à 4°C, dans une solution de glutaraldéhyde (Merck ou Fisher) à 2,5 % dans un tampon phosphate monopotassique-phosphate disodique 0,1 M, pH 6,8 ou 7,2 ; la préfixation est suivie d'un lavage de quelques heures dans le tampon, puis d'une fixation de 60 minutes dans une solution de tétroxyde d'osmium à 2 %, toujours à froid et dans le même tampon.

La conservation des stades plus évolués de l'ergastome n'est pas satisfaisante par le glutaraldéhyde. Ce résultat inattendu nous a amené à suivre l'action d'une solution tamponnée de glutaraldéhyde sur des tissus frais par montage de feuilles de Radula dans une goutte de fixateur. Dès les premiers instants, l'oléocorps pâlit ; puis les globules d'essence disparaissent et une heure après le début de la fixation, le contenu de l'oléocorps est optiquement vide. La membrane de l'oléocorps n'est pas altérée (ce qui est confirmé en microscopie électronique) ; l'oléocorps n'a pas éclaté mais son contenu a été modifié ou extrait.

Afin de savoir si le séjour dans la solution aldéhydique provoquait une extraction du contenu de l'oléocorps, des thalles frais, représentant un poids sec de 10 grammes environ, ont été placés dans 40 ml de solution aldéhydique tamponnée et les conditions de préfixation ont été renouvelées. La solution obtenue par filtration sur coton est trouble. Le produit extrait par l'éther a été étudié à l'aide d'un spectromètre de masse (voir constitution chimique des oléocorps); il contient des essences, mais pas de méthoxy-3-dibenzyle.

La masse du produit obtenu est inférieure au rendement normal de l'espèce en essence ; la solution de glutaraldéhyde n'extrait donc pas la totalité de l'essence de l'oléocorps, elle en modifie les propriétés physiques, de telle sorte que l'essence n'apparaît plus sous forme de globules en microscopie photonique.

b)- Après fixation osmiée, les jeunes stades de l'ergastome sont souvent moins bien conservés qu'après fixation glutaraldéhyde-osmium, mais le contenu des oléocorps est mieux respecté.

Nous avons suivi l'action de fixateurs osmiés (PALADE, CHAMPY) et de solution aqueuse d'acide osmique à 0,5, 1 ou 2 % sur des tissus frais. Les solutions non tamponnées donnent les mêmes résultats que les fixateurs tamponnés. Au bout de trente minutes environ, les mouvements browniens dont sont animés les globules, ont cessé dans la plupart des oléocorps. L'oléocorps est brun, sa membrane apparaît très nettement. Après une heure de séjour dans le fixateur, les feuilles sont rincées, plongées dans des alcools de degré croissant, puis dans l'oxyde de propylène et observées dans ce liquide : le contenu de l'oléocorps est plus clair qu'au début de l'expérience et les globules sont moins nombreux. La déshydratation a donc entraîné une extraction.

Il est certain que les stades âgés de l'ergastome livrent à l'observation au microscope électronique (après inclusion dans l'Epon) une image considérablement altérée par les traitements. La limite parfois très nette de certains globules est un artefact typique dû à la constitution d'une "croûte" d'osmium à la surface du globule d'essence. Il ne faut pas attacher trop d'importance aux variations de la densité aux électrons de la substance interstitielle et des globules car les images observées ne représentent que les combinaisons osmiées qui ont

résisté à la déshydratation.

c)- Après action de fixateurs à base de permanganate de potassium, l'essence qui constitue les globules est complètement extraite et la substance interstitielle apparaît finement granuleuse. De telles solutions ont été jugées inutilisables pour l'étude de l'ergastome.

B - Les étapes de la sporogénèse :

La cuticule de la coiffe des jeunes embryons, aussi bien que la paroi des sporocytes ou celle des spores, s'opposent à la pénétration des fixateurs, de sorte que les résultats de la fixation sont inconstants. Dans l'ensemble, un tampon selon Michaelis ou Sörensen contenant 2 % de tétroxyde d'osmium et 5 % de saccharose donne des résultats moins irréguliers que certaines autres solutions fixatrices.

C - Les étapes de la spermatogénèse :

Les spermatogonies se fixent convenablement avec n'importe quel fixateur. Spermatocytes et spermatides se contractent avec les solutions osmiques ; les meilleurs résultats ont été obtenus en préfixant 90 à 120 minutes à 4°C dans une solution contenant 3 à 6,5 % de glutaraldéhyde Merck (ou Fisher) et un tampon phosphate monopotassique - phosphate disodique 0,1 M, pH 6,8. Après un lavage à froid, les tissus sont fixés 60 minutes par une solution de tétroxyde d'osmium à 2 % dans le même tampon phosphate.

3°)- Déshydratatation et inclusion :

Après divers essais, les processus suivants ont été retenus :

A - La déshydratation est effectuée grâce à des solutions d'éthanol de force croissant de 10 en 10°. La déshydratation à 4°C provoque moins d'extraction qu'à 25°C (en particulier dans l'éthanol pur et l'oxyde de propylène). A 4°C, un séjour de 10 minutes dans chaque bain (jusqu'à 90°) est suffisant . Le séjour dans l'éthanol absolu est prolongé 60 minutes et l'alcool est changé trois fois. La déshydratation est parachevée par un séjour de 15 minutes, toujours à froid, dans une solution contenant 50 % d'éthanol absolu et 50 % d'oxyde de propylène pur, suivi du passage des objets dans trois bains successifs de 15 minutes chacun d'oxyde de propylène pur. Les deux premiers bains sont maintenus à 4°C ; pendant le séjour dans le troisième bain, les flacons contenant les fragments fixés sont maintenus à température ambiante et se réchauffent progressivement. La durée minimale de la déshydratation est d'environ 3 h 30 mn.

B - Le passage à la résine d'inclusion : nous avons adopté la technique que BOLLES-LEE recommandait au début du siècle pour faciliter le passage des objets de l'éthanol dans l'essence de cèdre. Une quantité de résine, suffisante pour faire une couche de 10 à 15 mm de hauteur, est versée dans un pilulier ; la résine est recouverte par l'oxyde de prophylène et les objets déshydratés. Le flacon n'est pas agité. Il est maintenu bouché une heure au minimum. Les objets tombent immédiatement à la surface de séparation des deux liquides, puis s'imprègnent progressivement de résine et tombent lentement au fond du pilulier. Le flacon est débouché pendant une dizaine d'heures, afin de permettre l'évaporation de la plus grande partie de l'oxyde de propylène.

Le lendemain, les objets imprégnés sont transférés dans une résine définitive non souillée ; ils sont maintenus quelques heures dans ce milieu, puis inclus dans des capsules préalable-

ment déshydratées par un séjour de quelques heures à l'étuve à 55°C.

La résine définitive est obtenue au moment de l'emploi à partir de deux solutions à base d'Epon 812 Shell et de D.D.S.A. (solution A) ou de M.N.A. (solution B). Les solutions stock A et B sont constituées suivant les proportions données par J.H. LUFT (1961). Les résultats sont satisfaisants avec le mélange suivant : solution A : 45 % - solution B : 55 % - D.M.P. 30 : 1,8 %.

D'autres résines (D.E.R. 732, D.E.R. 736, Araldite M CY 212) employées seules ou en mélange avec l'Epon, ainsi que d'autres catalyseurs de polymérisation, ont donné des résultats moins satisfaisants que ceux obtenus avec l'Epon seul ou ne nous ont pas paru présenter de nets avantages sur l'inclusion à l'Epon.

C - La polymérisation de la résine est assurée par un séjour minimum de 4 jours à l'étuve à 55°C.

4°)- Confection et traitement des coupes :

Les coupes sont effectuées sur des couteaux de verre montés sur un ultramicrotome Reichert OmU2. Les rubans de coupes sont recueillis sur des grilles en cuivre (tamis de 300 meshs) dépourvues de support ; les coupes sont contrastées sans autre préparation. Dans ce but, diverses techniques ont été essayées ; aucune ne donne des résultats supérieurs à un double contraste uranyle-plomb. Les coupes sont contrastées par flottage des grilles sur des gouttes de la solution adéquate.

a)- contraste à l'uranyle : la solution stock est

une solution saturée d'acétate d'uranyle dans l'éthanol absolu, conservée au réfrigérateur. Au moment de l'emploi, cette solution est diluée de moitié avec de l'eau permuttée froide. Les gouttes sont déposées sur la paraffine après filtration du produit sur papier filtre épais (qualité destinée aux filtrations lentes) ; chaque goutte reçoit immédiatement une grille, disposée de telle sorte que les coupes soient au contact du liquide. Le contact est maintenu 3 à 5 minutes. Chaque grille est lavée par une vingtaine d'immersions rapides dans deux piluliers contenant de l'éthanol à 50° filtré sur papier épais, puis elles sont séchées sur papier filtre.

b)- contraste au plomb : une solution de citrate de plomb est constituée selon E.S. REYNOLDS (1963) ou une formule très légèrement différente. La solution est conservée à 4°C et employée fraîche après filtration sur papier filtre épais. Un contact de 1 à 3 minutes donne un contraste suffisant pour révéler de fins détails, sans trop charger le fond.

5°)- Les électromicrographies :

Les clichés présentés dans ce mémoire ont été obtenus grâce au microscope O.P.L. Type M.E.U. et au microscope R.C.A. type M.E.U.3G de l'Institut de Microscopie électronique de Bordeaux.

*

* *

S E C O N D E P A R T I E

L'ERGASTOME

---oOo---

I N T R O D U C T I O N

I - REMARQUES SUR LA TERMINOLOGIE :

Un système structural caractéristique de la cellule des Hépatiques a depuis longtemps attiré l'attention des observateurs. Plusieurs d'entre eux ont été amenés à le désigner par un vocable rappelant sa constitution chimique ou son origine. La pluralité des termes utilisés révèle l'imprécision des connaissances au sujet de ce constituant protoplasmique, qui a longuement retenu notre attention.

Les premiers auteurs se sont contenté de le décrire ; C.M. GOTTSCHE (1843) le nomme Zellen-Körper et G. Von HOLLE (1857) Zellenbläschen. Ultérieurement, d'autres chercheurs lui attribuent une nature lipoïdique et créent des termes qui traduisent cette conception : Oelkörper (W. PFEFFER, 1874), oil-body (J. RATTRAY, 1886), Elaioplast (J.H. WAKKER, 1888).

Ces termes ont été repris dans des travaux plus récents, mais de nouvelles expressions ont été utilisées pour désigner les mêmes formations : Ölkörper (A.J.M. GARJEANNE, 1903 ; K. MULLER, 1939 ; P. ZOTTL, 1963), élaïoplaste (plusieurs auteurs à la suite de J.H. WAKKER), cuerpo aceitoso (A. CASARES-GIL, Flora iberica, 1909), oléoleucite (A. KOZLOWSKI, 1921), corps oléifère (A. MIRIMANOFF, 1939), corps oléiforme (P. DOMBRAY, 1926, puis plusieurs autres

auteurs), oléocorps (Mme S. JOVET-AST, 1948-1949 ; M. CHADEFAUD, 1960), éléiplaste, éléisome, éléoplaste (P. GAVAUDAN et coll., 1927 à 1930, 1960-1962), éléoplaste et éléocorps (J.L. VERDIER, 1965) ...

Parmi tous ces vocables, celui d'"oléocorps" semble préférable. Il est adopté dans la plupart des flores rédigées en français ainsi que dans le Traité de Botanique systématique de M. CHADEFAUD (1960) ; il est la traduction de "oil-body" ou "Ölkörper", consacrés par l'usage en d'autres langues ; d'autre part, les termes utilisant le suffixe "plaste" ne paraissent pas devoir être retenus car les oléocorps n'ont aucun rapport avec le plastidome.

L'oléocorps représente pour nous l'état final d'un système structural spécial aux Hépatiques, système que nous désignons sous le nom d'"ergastome". En fait, ce mot a déjà été utilisé par deux auteurs dans une acception plus large que la nôtre. Créé par P.A. DANGEARD en 1930, il se rapportait à "une formation de la cellule qui comprend l'ensemble des corpuscules osmiophiles formés dans le cytoplasme". La même année, P. GAVAUDAN reprend ce vocable et distingue chez les Hépatiques deux types d'ergastome :

1 - l'ergastome mobile, actif, ou permanent, composé des inclusions osmiophiles du cytoplasme ; il s'agit des gouttelettes lipidiques, que nous appelons "oléosomes".

2 - l'ergastome immobilisé, qualifié également de passif, transitoire ou différencié, composé d'ergastosomes dont l'évolution ultime est l'oléocorps.

L'"ergastome mobile" de P. GAVAUDAN, présent dans toute cellule vivante et constitué d'oléosomes, correspond à l'ergastome de P.A. DANGEARD ; seul l'"ergastome différencié", du

même auteur, est propre à la cellule des Hépatiques. Nous ne pensons pas nécessaire de conserver cette terminologie compliquée et adoptons le terme d'ergastome pour désigner le système cellulaire différencié de la cellule des Hépatiques. L'ergastome prend naissance dans une cellule méristématique sous forme d'ergastosomes dont l'évolution ultime aboutit à l'oléocorps dans la cellule différenciée.

II - TRAVAUX ANTERIEURS :

Les oléocorps semblent avoir été observés pour la première fois par I.W.P. HÜBENER(1) (1834) chez Leptocyphus taylori, puis par M. MIRBEL (1835) chez Marchantia polymorpha. En 1843, C.M. GOTTSCHE décrit ceux d'Haplomitrium hookeri ; il met en évidence une enveloppe après dissolution du contenu de l'oléocorps par l'éthanol et croit à la nature résineuse ou cireuse des globules. G. VON HOLLE (1857), S.O. LINDBERG (1862), puis K. GOEBEL(2) (1898) conçoivent l'oléocorps comme un mélange d'essence et de résine ; ils attribuent l'odeur des Hépatiques froissées à ces produits. W. PFEFFER (1874) consacre une étude détaillée aux "Oelkörper" de diverses espèces. L'oléocorps est considéré comme une accumulation de gouttelettes oléagineuses qui naissent spontanément au sein du cytoplasme ; il est donc pourvu d'un stroma albumineux, mais sa membrane n'est qu'un artefact de coagulation. W. VON KÜSTER (1894) se rallie à cette dernière opinion.

---

(1)- Cité d'après K. PIHAKASKI (1968).

(2)- Cité d'après P. DOMBRAY (1926).

J.H. WAKKER (1888) considère les oléocorps comme des chloroplastes dégénérés, emplis de gouttelettes oléagineuses. A. KOZLOWSKI (1921) voit des gouttelettes réfringentes et osmiophiles s'échapper des chloroplastes et s'accoler à des "oléoleucites" déjà existants ou bien donner naissance à de nouveaux oléoleucites. D'après A. MIRIMANOFF (1939), les prétendus "corps oléifères" d'Haplozia riparia ne sont que des chloroplastes désorganisés par une trop brusque réhydratation après une phase de déshydratation.

Pour A.J.M. GARJEANNE (1903), l'oléocorps est une enclave emplie de gouttelettes d'essence et enveloppée, comme les vacuoles, par une membrane cytoplasmique, le tonoplaste. C.E.J. LOHMANN (1903) conclut de ses recherches sur diverses Hépatiques que les oléocorps sont des enclaves emplies d'essences volatiles. K. MÜLLER (1905) précise que les essences extraites des thalles de quatre Jungermanniales sont constituées, selon l'espèce d'origine, d'un mélange de terpènes et d'alcools terpéniques ou de sesquiterpènes et d'alcools sesquiterpéniques.

L'opposition de P. DOMBRAY (1926) aux conclusions d'A.J.M. GARJEANNE ne repose que sur une ambiguïté dans la conception de la limite vacuolaire. En fait, il aboutit essentiellement aux mêmes conclusions que GARJEANNE et considère l'oléocorps comme une vacuole contenant des gouttelettes d'essence en suspension dans une solution de tannoïdes ; les constituants de l'oléocorps sont issus du cytoplasme et transformés par le suc vacuolaire, qui joue le rôle de catalyseur.

M.P. RIVETT (1918) pense que les oléocorps des cellules d'Alicularia scalaris résultent de la fusion dans une vacuole de fines gouttelettes synthétisées par le cytoplasme et sont constitués de protéines et de lipides en solution dans une essence. Pour Mlle H. POPOVICI (1927), les "elaïplastes" ne sont ni des

vacuoles, ni des inclusions vacuolaires, mais des formations cytoplasmiques, en général de nature non lipidique. Pour G. CHALAUD (1929), les oléocorps de Fossombronia pusilla résultent de l'agrégation des gouttelettes lipidiques du cytoplasme.

P. GAVAUDAN (1930) combat la théorie de l'origine vacuolaire ; pour lui, les oléocorps constituent un système particulier (l'"ergastome différencié") qui n'a avec le vacuome que des relations de proximité. L'ensemble des substances osmiophiles du cytoplasme ("ergastome mobile") concourt à la genèse de l'ergastome différencié. Un substrat protéique existe au moins au début de la formation des ergastosomes. Contrairement à l'opinion de P. DOMBRAY, il soutient l'absence fréquente de tannins dans l'oléocorps, mais caractérise leur présence dans la vacuole.

Après l'examen d'un certain nombre d'espèces exotiques, MmeS. JOVET-AST (1948-1949) suggère que les oléocorps contiennent une huile essentielle en dissolution dans des lipides.

Pour B. SLAVIK (1950), l'oléocorps est un groupement de gouttelettes d'essence sécrétées par le cytoplasme et séparées par des "plasmatic septums".

Les récentes recherches de S. HUNECK (1963), D. MEUCHE et S. HUNECK (1966), S. HUNECK et E. KLEIN (1967) pratiquées avec l'aide de techniques modernes d'analyse élémentaire (chromatographie, spectrométrie) ont abouti à la caractérisation de deux azulènes dans l'essence extraite de Calypogeia trichomanis (Jungermanniale) ainsi que d'un sesquiterpène et un alcool sesquiterpénique dans l'essence extraite de Scapania undulata (Jungermanniale).

Dans cet historique, l'analyse des travaux anciens a été limitée aux recherches les plus importantes. Bien qu'in-

complet, il met nettement en évidence la diversité des opinions émises par les auteurs ; travaillant souvent dans les mêmes conditions et parfois sur le même matériel, certains chercheurs ont en effet abouti à des conclusions radicalement opposées quant à la genèse et la constitution de ces enclaves.

Le rôle physiologique des oléocorps a aussi été l'objet d' hypothèses variées. E. STAHL(1) (1888), avec un finalisme bien caractéristique de l'époque, les considère comme des moyens de défense contre les animaux. H. MOLISH(1) (1921) y voit un écran lumineux. De nombreux auteurs ne se prononcent pas ; certains les considèrent comme des excrétats, d'autres leur attribuent un rôle dans la revivescence. B. SLAVIK (1950) voit dans les oléocorps l'aboutissement d'une évolution spécifique, dépourvue de signification physiologique chez les Hépatiques actuelles.

A partir de 1960, quelques recherches ont été effectuées sur ces constituants en utilisant les techniques de la microscopie électronique.

M.L. CARBONNIER et P. GAVAUDAN (1960) décrivent l'éléoplaste de Madotheca platyphylla comme un élément dépourvu de structure interne et d'origine cytoplasmique, bien qu'en étroite relation avec un système cavitaire. Le "système ergastoplasmique" ou un "système microsacculaire" pourrait être lié à sa genèse.

J.L. VERDIER (1965) distingue trois types de cellules dans les propagules de Lunularia cruciata. A l'intérieur de la vacuole centrale des cellules à "éléocorps", il constate la présence de nombreux globules de petite taille et d'un corps plus volumineux : le corps central. Ce corps et les globules sont

---

(1)- Cité d'après P. DOMBRAY (1926).

limités par un liseré dense. Le corps central pourrait être d'origine cytoplasmique ; il est Feulgen positif et APS positif. L'auteur met en doute l'existence de lipides dans l'oléocorps et exclut celle de tanins.

Mlle K. PIHAKASKI (1966_1968) étudie le développement des oléocorps dans l'apex et les feuilles de deux Jungermanniales : Bazzania trilobata et Lophozia ventricosa. Chaque oléocorps est limité par une membrane tripartite ; il contient des globules osmiophiles et un stroma granuleux. La couche interne de la paroi est plus épaisse que l'externe ; la taille des globules varie avec l'espèce ; le stroma granuleux qui s'étend entre les globules et la paroi est assimilé à du cytoplasme. Les oléocorps de Bazzania sont pourvus de cloisons internes et leur paroi est en partie entourée d'une fine membrane. Les oléocorps ne tirent leur origine ni de mitochondries, ni de chloroplastes, ni du noyau. Après avoir pensé (1966) que les oléocorps de Bazzania se forment par coalescence, à l'intérieur d'une vacuole, de globules lipidiques élaborés au sein de cette même vacuole, l'auteur estime (1968) que la structure de la paroi des oléocorps rend improbable une origine vacuolaire ou golgienne, de même qu'une formation à partir du reticulum endoplasmique. Pour Mlle PIHAKASKI, les oléocorps des deux espèces étudiées semblent se constituer à partir de corps intracytoplasmiques autour desquels se différencient un stroma et une membrane.

En conclusion, la constitution chimique de l'oléocorps apparaît mieux connue que l'évolution structurale de l'ergastome. Il est certain que l'oléocorps contient des essences principalement constituées de mono et de sesquiterpènes, ainsi que des alcools correspondants, mais la composition des essences extraites varie avec l'espèce d'origine. Par ailleurs, l'origine de l'ergastome est discutée.

---oOo---

C H A P I T R E I

RECHERCHES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE

---oOo---

Les recherches que nous avons effectuées sur l'ergastome à l'aide de la microscopie photonique ont été partiellement publiées dans un travail antérieur (C. SUIRE, 1966). Nous ne rapportons ici que les données essentielles des phases évolutives dont la connaissance est indispensable pour l'analyse ultrastructurale qui est exposée dans le chapitre suivant.

I - Etude de Radula complanata :

Toutes les cellules différenciées du gamétophyte et du sporophyte sont, en règle générale, pourvues d'oléocorps. Les cellules à l'état méristématique n'en possèdent pas: tel est le cas des cellules des apex caulinaires ou des bourgeons foliaires , des éléments constituant les enveloppes des jeunes archégones ou des anthéridies et de ceux des assises internes de la coiffe d'embryons peu évolués. Dans toutes ces cellules, l'absence d'ergastome est transitoire puisque les oléocorps sont mis en évidence dans les stades âgés. Par contre, les cellules du sac sporogène et celles du pied de la capsule ainsi que le tissu spermatogène sont toujours dépourvues de ce type de constituant cellulaire. Quant aux pro-

pagules, qui sont des massifs cellulaires édifiés à partir d'une cellule foliaire marginale pourvue d'oléocorps, leurs éléments peuvent hériter des oléocorps de la cellule initiale ; dans le cas contraire, des ergastosomes s'y différencient rapidement, si bien que toutes les cellules des propagules sont finalement pourvues d'un ergastome.

Les stades de la formation et de l'évolution des ergastosomes ont été suivis, dans les limites des possibilités au microscope photonique, par observation sur le vivant après coloration vitale ou sans coloration, ainsi que sur coupes de tissus fixés par un liquide osmié. Les plus jeunes stades de l'ergastome ont été observés dans certaines cellules du méristème apical, de la vaginule ou de la propagule. L'ergastosome est alors une enclave optiquement vide de 2 à 5 µ de longueur, en forme de fuseau arqué (fig. 5 , pl. 1) ; les parties les plus effilées apparaissent en général plus réfringentes que les autres régions de l'enclave. Le contenu n'est pas colorable par le Rouge neutre dans le délai habituel des colorations vitales.

L'observation vitale prolongée permet de suivre le comportement des ergastosomes et d'assister à leur expansion dans la cellule. L'ergastosome fusiforme s'allonge et se dilate (fig. , pl. 1) ; ses extrémités s'arrondissent et perdent leur réfringence. Un ergastosome isolé a alors la forme d'un sac plissé, comparable à une vessie dégonflée (fig. 1 , pl. 1) ; son contenu est incolore, mais des courants de granules très ténus sont visibles à l'intérieur de l'enveloppe. La vitesse de ces courants s'accélère, puis en une fraction de seconde, une région du sac se déplisse ; les plastes sont repoussés par cet accroissement de volume de l'ergastosome et se répartissent dans le cytoplasme. Cette phase est suivie, quelques minutes plus tard, de l'expansion tout aussi rapide d'une nouvelle fraction de l'ergastosome. Le phénomène se poursuit jusqu'à ce que la paroi soit entièrement

déplissée. L'ergastosome, au maximum de sa dilatation, apparaît alors légèrement mammeloné. Des courants internes sont encore perceptibles ; moins rapides qu'au cours de la phase d'expansion, ils entraînent des particules plus volumineuses. Une préparation microscopique de matériel vivant peut être ainsi maintenue sans altération durant deux heures. Au delà, une altération commence à se manifester au niveau de certaines cellules.

Que faut-il penser des phénomènes qui viennent d'être décrits ? Il paraît évident que les conditions de montage des préparations provoquent de légères perturbations physiques sur les cellules et que les traumatisme provoqués par le prélèvement de l'organe étudié sur la plante facilitent l'hydratation des tissus. Nous ne pensons pas toutefois que ces conditions expériementales entraînent l'apparition d'artefacts ; à notre avis, elles provoquent l'accélération de processus qui se déroulent normalement dans les tissus et dont les phases terminales sont identiques à celles observées in vivo.

Parvenu au terme de son évolution morphologique, l'ergastosome se présente sous la forme d'une enclave de couleur bistre, limitée par une membrane réfringente et emplie d'un liquide dans lequel sont en suspension d'innombrables globules réfringents, presque tous de volume identique.

Au cours de l'évolution de l'ergastome, le contenu de l'ergastosome présente des variations d'osmiophilie qui traduisent certainement une modification progressive de sa composition chimique. Le contenu des ergastosomes fusiformes n'est pas osmiophile, mais les granules de l'ergastosome en forme de sac plissé ainsi que les globules de l'oléocorps le sont : une substance osmiophile est donc élaborée et devient le constituant chimique principal de l'oléocorps.

L'enveloppe des ergastosomes est toujours osmiophile, aussi bien dans les stades peu évolués que dans les oléocorps. L'osmiophilie et la réfringence importante de la paroi ergastosomique sont bien mises en évidence par l'étude en microscopie photonique mais n'ont pu recevoir une explication satisfaisante que grâce aux observations effectuées en microscopie électronique.

Après action de l'osmium, l'enveloppe des ergastosomes se différencie nettement du tonoplaste, qui ne fixe pas l'osmium de manière perceptible en microscopie photonique. Cette constatation est un des arguments qui militent en faveur de l'indépendance de l'ergastome et du vacuome. D'autres faits, observés sur le vivant après coloration au Rouge neutre, viennent à l'appui de cette conception. Bien que la pénétration du colorant soit lente dans les organes âgés et que les limites des vacuoles colorées soient souvent imprécises, l'observation de nombreux exemples favorables a permis de dégager deux faits qui prouvent l'indépendance du vacuome et de l'ergastome :

- Les ergastosomes hyalins ne se colorent jamais vitalement. Les oléocorps peuvent se colorer secondairement, mais il s'agit d'un phénomène sublétal.

- L'oléocorps est le plus souvent situé entre la vacuole et la paroi cellulaire de la face dorsale de la feuille, de sorte qu'il masque la vacuole colorée vitalement. Toutefois, dans certains cas, l'ergastosome a une forme et une localisation différentes de celles de la vacuole ; l'enveloppe ergastosomique et le tonoplaste apparaissent alors nettement distincts (fig. 2, pl. 1).

Avant de tirer les conclusions de cette étude, il nous paraît important d'ajouter quelques remarques à l'exposé de ces observations.

a)- Le nombre d'oléocorps dans chaque cellule dépend du

tissu considéré et se maintient relativement constant pour un même tissu. Les cellules foliaires possèdent chacune un ou deux oléocorps très volumineur, rarement davantage. Les cellules épidermiques de la coiffe en contiennent 20 à 30, et les plus volumineuses cellules de la tige jusqu'à cinquante. D'une façon générale, le nombre des oléocorps est inversement proportionnel au volume de chacun d'eux.

b)- Deux oléocorps d'une même cellule sont parfois reliés par un fin canalicule dont les parois sont en continuité avec celles des oléocorps, ce qui suggère que les enclaves les plus volumineuses sont les dilatations localisées d'un système intracytoplasmique.

c)- De nouveaux ergastosomes peuvent apparaître et se développer dans des cellules qui possèdent des oléocorps complètement différenciés, ce qui implique la possibilité d'une genèse continue de ces enclaves dans le cytoplasme (fig. 4 , pl. 1).

d)- La cellule initiale des propagules se divise malgré la présence d'oléocorps.

e)- Des indicateurs colorés ont permis d'établir que le pH des oléocorps est vraisemblablement compris entre 3 et 5.

En conclusion de nos observations en microscopie photonique, l'ergastome est un élément caractéristique de la cellule de Radula complanata et vraisemblablement de toutes les Hépatiques Jungermanniales et Metzgériales. Bien qu'il présente des analogies avec les formations paraplasmiques constituant le vacuome, il s'en distingue par la structure de ses éléments, leur genèse et leur constitution chimique ; par contre, un rôle d'accumulation de grosses molécules semble dévolu à la fois aux oléocorps et aux éléments du vacuome.

La fonction de l'ergastome dans le métabolisme cellulaire des Hépatiques n'en est pas pour autant élucidée.

II - Exemple de Pellia epiphylla :

1°)- Les cellules du thalle :

L'exemple de Pellia n'a été envisagé qu'à titre de comparaison ; la genèse de l'ergastome n'a pas été complètement suivie, mais des étapes caractéristiques de l'évolution des ergastosomes, homologues de celles déjà décrites chez Radula, y ont été observées. Il apparaît donc hautement probable que l'ergastome de Pellia se différencie et évolue de la même façon que celui de Radula.

Les cellules de la partie apicale du thalle contiennent des enclaves hyalines qui représentent manifestement des ergastosomes peu évolués. Les autres cellules du thalle possèdent 10 à 30 oléocorps de 10 à 15 µ de longueur et 4 à 8 µ de diamètre. La paroi des oléocorps est à la fois osmiophile et fortement réfringente. Les oléocorps contiennent des globules osmiophiles, souvent plus volumineux que ceux de Radula. La paroi se modèle sur ces globules, de sorte que l'oléocorps apparaît mûriforme.

2°)- La spore :

Les cellules de spores pluricellulaires contiennent des éléments allongés, arqués ou flexueux, qui représentent des ergastosomes (fig. 6 , pl. 1).

---oOo---

C H A P I T R E II

RECHERCHES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

---oOo---

I - Etude de Radula complanata :

Les différents tissus qui ont révélé la présence d'oléocorps en microscopie photonique ont été l'objet d'investigations en microscopie électronique. On a ainsi tenté de reconstituer la genèse de l'ergastome à partir des tout premiers stades reconnaissables des ergastosomes jusqu'aux oléocorps différenciés. Les résultats de cette étude sont superposables, quel que soit le tissu considéré ; c'est la synthèse de ces résultats qui est exposée dans les paragraphes qui suivent.

1°)- Les stades évolutifs de l'ergastome :

La discrimination des oléocorps différenciés sur électromicrographies ne présente pas de difficultés ; ces enclaves visibles sur la fig. 1, pl. 7 ont une structure différente de tous les autres constituants cellulaires (voir plus loin). La distinction est plus délicate dans les tout premiers stades du développement où les cavités du reticulum endoplasmique sont en relation d'une part avec les vacuoles et d'autre part avec les éléments de l'ergastome (fig. 2 et 3, pl. 4). Dans la

cellule jeune, la première ébauche d'un ergastosome apparaît comme une digitation du reticulum endoplasmique emplie d'un précipité légèrement osmiophile, d'aspect floconneux et de dispersion uniforme (E' de la fig. 2, pl. 4). Par le suite, cette cavité se dilate considérablement et une partie de la substance osmiophile se condense à la périphérie interne de l'enclave. La densification de la paroi des ergastosomes est un des caractères permettant de distinguer ces formations des éléments du vacuome.

L'évolution ultrastructurale des ergastosomes est difficile à saisir en raison de l'hétérogénéité de leur structure, ce dont il a déjà été fait mention en microscopie photonique : les ergastosomes ont été décrits comme des fuseaux arqués optiquement vides, de 2 à 5 µ de longueur ; leurs régions effilées apparaissent souvent plus réfringentes et plus osmiophiles que les parties élargies. Sur électromicrographies, les régions effilées correspondent à des plages de surface réduite, emplies d'un précipité floconneux analogue à celui des ébauches d'ergastosomes ; des communications avec le reticulum endoplasmique ont été observées. Les précipités floconneux tirent leur origine des colloïdes réfringents et osmiophiles observés en microscopie photonique. Par contre, les régions médianes des ergastosomes apparaissent sur électromicrographies sous forme d'enclaves volumineuses dont l'enveloppe est sans relation avec le reticulum endoplasmique ; elles contiennent un granulum osmiophile, localement condensé en travées, dans lequel sont disséminés des globules de taille variable et de densité inégale aux électrons. La paroi de ces régions est plus dense que celle des vacuoles. A fort grandissement, cette paroi se révèle être une membrane tripartite dont la couche interne est plus épaisse que l'externe. Cet épaississement représente la fraction la plus condensée du dépôt périphérique de substances osmiophiles (fig. 2, pl. 7) ; il se forme en même temps qu'apparaissent des globules osmiophiles dispersés dans l'ergastosome.

En résumé, les ergastosomes naissent dans la cellule à partir de dilatations de reticulum endoplasmique dont le contenu est d'abord occupé par un précipité floconneux (Sch. 1 a) ; un enrichissement en matériaux osmiophiles a lieu progressivement sous forme d'un dépôt granuleux (Sch. 1 b), puis d'un épaississement dense au niveau du feuillet interne de la paroi tripartite et, dans le reste de l'enclave, sous forme de globules plus ou moins opaques aux électrons, isolés au sein d'un précipité (Sch. 1 c). Les globules deviennent de plus en plus nombreux tandis que toutes les connexions avec le reticulum endoplasmique disparaissent ; les modalités de ce dernier phénomène n'ont pas pu être précisées.

Les observations relatives à l'évolution des globules internes ne renseignent qu'incomplètement sur la structure de ces inclusions. Il est évident qu'une extraction plus ou moins importante de composés s'effectue au cours des traitements précédant l'imprégnation des tissus par la résine d'inclusion ; les variations de l'osmiophilie des globules peuvent donc aussi bien résulter des modifications de leur constitution chimique que de l'extraction d'une partie de leur substance par des solvants. Le volume des globules s'accroît au cours de la différenciation de l'ergastome. Chaque globule devient granuleux (pl. 6) ; sa région centrale apparaît moins opaque que la périphérie (fig. 3, pl. 5) et dans certains cas, il ne subsiste à la limite du globule qu'un mince liseré périphérique, non assimilable à une membrane biologique tripartite (fig. 3, pl. 7). De toute façon, la totalité du globule redevient très osmiophile dans les stades ultérieurs de la différenciation. Quant à la substance interstitielle, son osmiophilie s'accroît sans atteindre cependant l'intensité de celle des globules qu'elle englobe. Le dépôt présent à la périphérie interne des

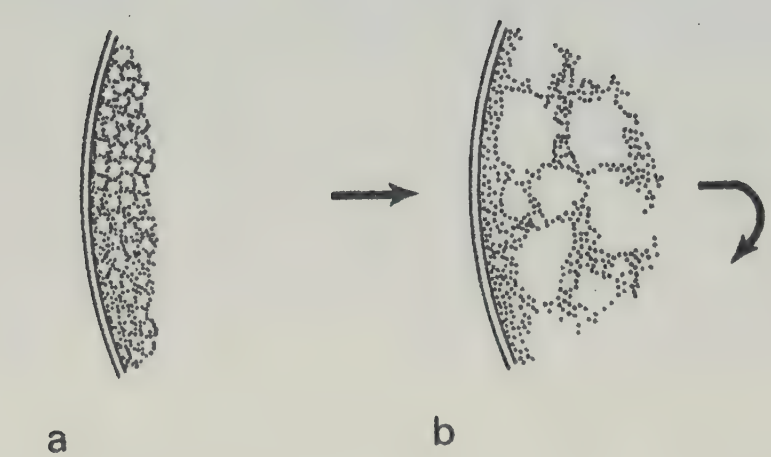
Schéma 1 - Evolution des substances osmiophiles dans l'ergastosome de Radula complanata :

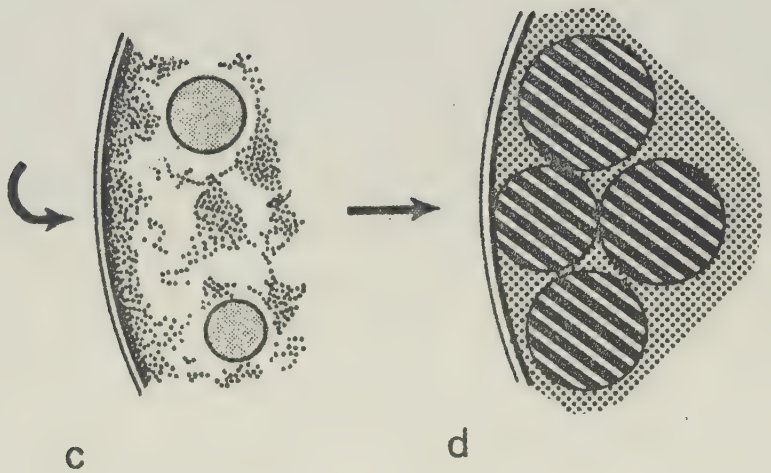
a)- Représentation schématique d'une région appartenant à une ébauche ou à la partie effilée d'un ergastosome et contenant un précipité floconneux.

b)- Dépôt périphérique de substance osmiophile dans un ergastosome peu évolué ou dans la région d'un ergastosome plus évolué, voisine de la partie effilée.

c)- Région moyenne d'un ergastosome. La partie externe du dépôt périphérique se condense en un liseré très dense aux électrons, qui se confond avec le feuillet interne de la membrane tripartite. Les globules qui apparaissent sont d'abord peu osmiophiles.

d)- Oléocorps. Les globules sont très osmiophiles. Le précipité granuleux est remplacé par une substance homogène, moins osmiophile que les globules.


a
b


c
d

jeunes ergastosomes n'apparaît plus en fin d'évolution (fig. 1, pl. 7) ; le feuillet interne de la paroi ergastosomique, par contre, demeure toujours plus dense que celui des autres membranes tripartites de la cellule (Sch. 1 d). L'oléocorps subsiste avec ces caractères jusque dans les tissus âgés.

2°)- Rôle des plastoglobules dans la genèse de l'ergastome :

Certains phénomènes de lipogenèse se manifestant au niveau de cellules en cours de différenciation nous amènent à attribuer aux composés lipoïdiques formés un rôle dans la genèse de l'ergastome.

A - Les gouttelettes lipidiques intracytoplasmiques sont abondantes dans toutes les cellules de Radula, à tous les stades de leur évolution.

B - Les plastes de Radula ne synthétisent à aucun moment de l'amidon. Ceux du gamétophyte contiennent des "plastoglobules" (H.K. LICHTENTHALER et E. PEVELING, 1967) osmiophiles, particulièrement volumineux dans les cellules méristématiques de l'apex caulinaire ; ceux du tissu sporogène en sont dépourvus. Par ailleurs, les cellules du gamétophyte contiennent des ergastosomes dont la différenciation est particulièrement active dans les cellules de l'apex caulinaire et celles de jeunes feuilles ; les cellules du sac sporogène sont dépourvues d'ergastome. Le rapprochement de ces faits suggère une relation éventuelle entre plastoglobules et jeunes ergastosomes.

C - Des plastoglobules sont libérés des plastes et rejetés dans le hyaloplasme où ils se confondent avec les oléosomes intracytoplasmiques. D'autre part, les jeunes ergastosomes peuvent incorporer des globules osmiophiles intracytoplasmiques : il est possible que les seuls globules incorporés au cours de la genèse

de l'ergastome soient les plastoglobules devenus intracytoplasmiques.

L'hypothèse que nous venons d'avancer est étayée par les faits suivants : les plastes de jeunes cellules apicales ou foliaires possèdent souvent quelques globules osmiophiles nettement plus volumineux (jusqu'à 0,5 µ de diamètre - fig. 1, pl. 4) que ceux des plastes de cellules parvenues au terme de leur évolution. Dans des coupes de jeunes tissus apparemment bien fixés, nous avons parfois observé des plastes plus ou moins désorganisés : leur paroi est détruite dans certaines régions et le contenu plastidial est directement en contact avec le cytoplasme. Certaines enclaves aberrantes, contenant des globules osmiophiles et des saccules empilés déformés, ont été interprétées comme le résultat d'une désorganisation complète de plastes (fig. 1, pl. 4). Ces faits suggèrent l'extrusion dans le cytoplasme de plastoglobules. Ces globules libérés ne se différencient en rien des autres globules intracytoplasmiques (oléosomes). Par ailleurs, certaines électromicrographies suggèrent que des globules intracytoplasmiques préalablement accolés à la couche externe de la paroi d'ergastosomes peu différenciés, très pauvres en globules internes, peuvent être incorporés par ces éléments : la paroi ergastosomique s'invagine en face du globule, se désorganise devant lui et se reforme derrière (fig. 2, pl. 5). Les globules incorporés prennent donc part à l'élaboration du contenu des ergastosomes peu évolués et sont, à notre avis, les premiers globules internes qui apparaissent dans cette enclave. L'incorporation de globules intracytoplasmiques par l'oléocorps n'a jamais été observée et nous paraît donc exclue. La possibilité de prélever des substances dans le cytoplasme apparaît comme l'apanage des premiers stades de l'évolution de l'ergastome.

Le rapprochement de tous ces faits suggère qu'une sélection s'opère parmi les globules osmiophiles qui se trouvent au voisinage du jeune ergastosome et que seuls sont incorporés les globules d'origine plastidiale. La sélection pourrait reposer sur une différence de composition chimique entre oléosomes (d'origine cytoplasmique) et globules libérés des plastes.

D - Tous les globules réfringents intracytoplasmiques d'une cellule sont osmiophiles et se colorent en rose lilas par le réactif nadi : les oléosomes sont donc de nature lipidique. H.K. LICHTENTHALER et coll. (1966-1967) ont prouvé que les plastoglobules d'Allium cepa sont constitués de lipoquinones et qu'ils ne contiennent ni chlorophylle, ni caroténoïdes. Ces résultats ne sont mentionnés ici qu'à titre indicatif et ne préjugent en rien de la constitution des plastoglobules de Radula, dont l'osmiophilie est une présomption en faveur de leur nature essentiellement lipidique. L'état actuel des recherches ne permet pas de savoir si leur composition est différente de celle des oléosomes ; tout au plus peut-on émettre l'idée que des quinones localisées uniquement dans les globules d'origine plastidiale, peuvent être à l'origine d'une éventuelle incorporation préférentielle de globules par le jeune ergastosome.

E - Des lipides constituant essentiellement les globules incorporés prennent donc part à l'élaboration du contenu des ergastosomes peu évolués. Cette participation est limitée aux premiers stades évolutifs de l'ergastome car l'incorporation de globules par l'oléocorps nous paraît exclue : la masse de composés parvenus dans le jeune ergastosome après l'incorporation ne peut être qu'infime par rapport à celle de l'élément complètement différencié et, dans ces conditions, il est impossible d'attribuer à ces substances l'origine principale du contenu de l'oléocorps. D'ailleurs, l'oléocorps de Radula ne contient vraisemblablement pas de lipides. La réaction nadi à pH 7,2 utilisée selon la

technique de R. DAVID et J.P. CARDE (1964) colore les lipides en rose violacé et les essences en bleu foncé : pratiquée sur des feuilles de Radula, elle colore tous les globules de l'oléocorps en bleu et montre qu'aucun constituant de l'oléocorps ne se colore en rose.

L'oléocorps de Radula contient une essence constituée de monoterpènes, de sesquiterpènes et de méthoxy-3-dibenzyle (voir sa composition chimique p. 54). La biosynthèse du composé méthoxylé est inconnue mais les travaux les plus récents sur celle des carbures terpéniques excluent leur origine lipidique.

D'après G. OURISSON et P. CRABBÉ (1961) ainsi que d'après J.H. RICHARDS et J.B. HENDRICKSON (1964), la biogenèse des terpènes débute par la formation d'isopenténol à partir d'acétates ou d'acides aminés ; le pyrophosphate de cet alcool est considéré comme l'unité isoprénique responsable des condensations ultérieures : les composés terpéniques ne tirent donc pas leur origine d'acides gras. D'après RICHARDS et HENDRICKSON, la polymérisation de certains précurseurs dont la molécule contient plus de 50 atomes de carbone, serait à l'origine des chaînes latérales d'ubiquinones et de gommes naturelles : il n'est donc pas exclu que des quinones liées aux lipides incorporés interviennent dans l'élaboration de composés complexes de l'ergastosome.

F - Si une fraction des oléosomes des cellules gamétophytiques de Radula est synthétisée au niveau des plastes, il est évident que le cytoplasme demeure le lieu privilégié d'élaboration des globules lipidiques dans la cellule. Cette remarque est particulièrement évidente dans le cas des cellules sporogènes dont les plastes sont dépourvus de globules osmiophiles. D'après les travaux de biochimie les plus récents, (P. MAZLIAK, 1968), la synthèse intracytoplasmique des lipi-

des débute, comme celle des essences, par l'activation d'ions acétate et leur condensation en molécules simples, puis en chaînes grasses plus complexes.

En conclusion, si dans ses stades initiaux l'ergastome prélève dans le cytoplasme des composés lipidiques, il perd ensuite cette possibilité et les carbures qui constituent une importante fraction de son contenu sont élaborés au sein de l'ergastosome à partir d'ions simples.

3°)- Intervention de constituants autres que les plastoglobules au cours de la genèse de l'ergastome :

Aucun indice ne suggère un apport d'origine golgienne au cours de la genèse de l'ergastome : la participation de l'appareil de Golgi paraît donc exclue.

Des pseudo-cristaux que nous supposons de nature protéique (fig. 3, pl. 5) se forment probablement dans des dilatations du reticulum endoplasmique et se trouvent dans des vacuoles, où ils se désorganisent en donnant un peloton de filaments. Leur présence dans l'oléocorps n'a jamais été observée et nous les considérons comme étrangers à l'ergastome.

4°)- Constitution chimique de l'oléocorps de Radula complanata :

Cette question complexe a suscité de nombreux travaux et donné lieu à de nombreuses controverses (voir p. 31). Elle n'a pas reçu de réponse satisfaisante chez Radula complanata.

En collaboration avec J.P. CARDE[1], quelques réactifs ont été essayés. Certains donnent des réactions nettes.

---

(1)- Laboratoire de Biologie végétale de la Faculté des Sciences de Bordeaux.

A - Recherche de polyphénols :

Les réactions sont incertaines ou négatives, ce qui nous fait douter de la présence de tanins dans l'oléocorps. Certaines réactions sont faiblement positives au niveau de la vacuole, ce qui pourrait être l'indice d'une faible proportion de polyphénols dans le suc vacuolaire.

Nos résultats actuels ne confirment qu'en partie les recherches de P. DOMBRAY (1926) qui affirme chez Radula la présence de tanins dans l'oléocorps et de tannoïdes en solution dans la vacuole (thèse, p. 62-63). P. GAVAUDAN (1930) étudie aussi Radula complanata et estime que"s'il existe des tanins, ces derniers sont localisés dans la vacuole, et accessoirement peut-être dans les oléocorps eux-mêmes" (thèse, p. 128).

B - Recherche de polysaccharides :

M. QUILLET (1956) a analysé des extraits de thalles de Radula complanata et caractérisé la présence d'un polyfructoside. Les chloroplastes ne contenant pas d'inclusions figurées non osmiophiles, ce composé glucidique ne peut se trouver que dans la paroi cellulaire ou à l'état dissous dans le stroma plastidial, l'oléocorps ou la vacuole.

Des réactions APS ont été pratiquées sur des feuilles fraîches : la paroi cellulaire se colore en rouge intense, les chloroplastes et la vacuole prennent une coloration diffuse rose léger. Le seul constituant nettement APS positif est donc la paroi cellulaire. L'oléocorps est APS négatif ; il ne contient certainement pas de polysaccharides.

C - Caractérisation d'une essence :

La présence d'une essence a été mise en évidence chez Radula complanata par plusieurs auteurs (C.E.J. LOHMANN,

1903 ; K. MÜLLER, 1905 et P. DOMBRAY, 1926, entre autres). Pratiquée sur des feuilles fraîches, la réaction nadi à pH 7,2 est nettement positive. Elle donne les résultats suivants :

- les oléosomes se colorent en rose lilas, ce qui confirme leur nature lipidique.
- les globules de l'oléocorps se teintent en bleu léger, puis deviennent coalescents sous forme de gouttes colorées en bleu foncé : cette coloration est spécifique des essences (R. DAVID et J. P. CARDE, 1964).

D - Nature de la substance interstitielle de l'oléocorps :

Elle ne contient pas de tanins (ou très peu) et pas de composés APS positifs ; la réaction nadi n'est vraiment positive qu'au niveau des globules ; enfin, les fixateurs osmiés transforment cette substance en un fin précipité plus ou moins osmiophile, bien visible en microscopie électronique.

Ces données nous conduisent à considérer l'oléocorps de Radula comme une suspension de globules d'essence dans une substance osmiophile, de nature chimique et d'état physique inconnus.

E - Composition chimique de l'essence extraite du thalle :

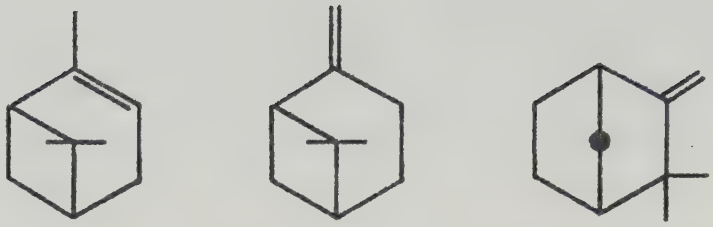
Un essai d'analyse de l'essence extraite du thalle de Radula par distillation a d'abord été effectué au Laboratoire de Biologie végétale (Professeur J. VINDT) sous la direction de Mme C. BERNARD et de Mlle G. PAULY. Grâce à l'obligeance du Professeur R. LALANDE et en collaboration avec M. et Mme G. BOURGEOIS, l'analyse définitive de l'essence obtenue par entraînement à la vapeur d'eau a été menée à bien au Laboratoire de Chimie appliquée[1].

(1)- Des renseignements plus détaillés seront publiés dans une note distincte.

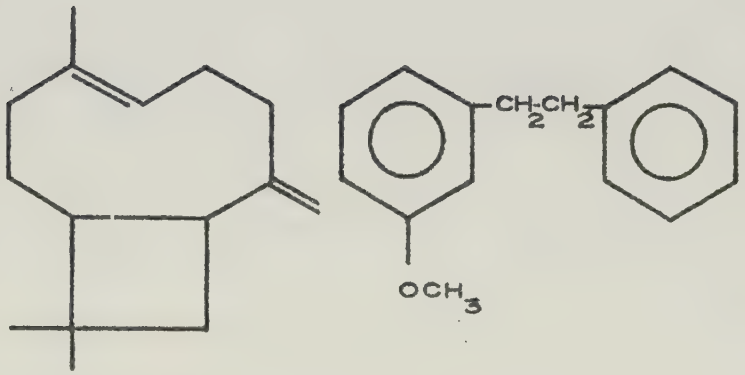
Une masse de 1000 g de thalles humides de Radula, représentant environ 70 g en poids sec, a été broyée puis placée dans un ballon en relation avec un générateur de vapeur d'eau et un réfrigérant. La vapeur a été surchauffée avant de parvenir au contact de l'Hépatique et son barbotage maintenu durant deux heures. Le distillat a été recueilli dans un flacon d'Erlenmeyer, puis extrait à l'éther ; l'évaporation du solvant a été effectuée au bain-marie. Une masse de 1,5 g d'une essence légèrement ambrée, d'odeur forte et pénétrante, a été obtenue. Le rendement pondéral de l'opération est donc de l'ordre de 2 %.

L'essence a été injectée dans un chromatographe en phase gazeuse, couplé à un spectromètre de masse A.E.I. MS 12 ; ce dispositif permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des produits séparés par chromatographie. Afin de mettre en évidence tous les composés de l'essence, deux types de conditions expérimentales ont été réalisées. Dans les deux cas, 1 uI d'essence a été injecté dans des colonnes de 1/4 de pouce de section et de 2 m. de longueur ; l'hélium a été utilisé comme gaz porteur et son débit réglé à 45 ml/mn. Seules, la composition des colonnes et les conditions de programmation de la température du four ont varié.

a)- Avec une colonne emplie de chromosorb W 60/80 imprégné par 20 % de carbowax et une température maintenue à 120°C pendant 10 mn, puis augmentée à raison de 6°C par minute jusqu'à 200°C, on a obtenu le chromatogramme 2a qui a permis de mettre en évidence 3 monoterpènes de masse moléculaire 136 ; ils ont été identifiés respectivement suivant leur temps de rétention croissant à l' α pinène (composé n° 1), au camphène (3) et au β pinène (2). Correspondant à des temps de rétention plus longs, 6 sesquiterpènes de masse moléculaire 204 ont été séparés : l'un d'eux a été identifié au caryophyllène (4).



① α pinène $C_{10}H_{16}$ ② β pinène $C_{10}H_{16}$ ③ camphène $C_{10}H_{16}$



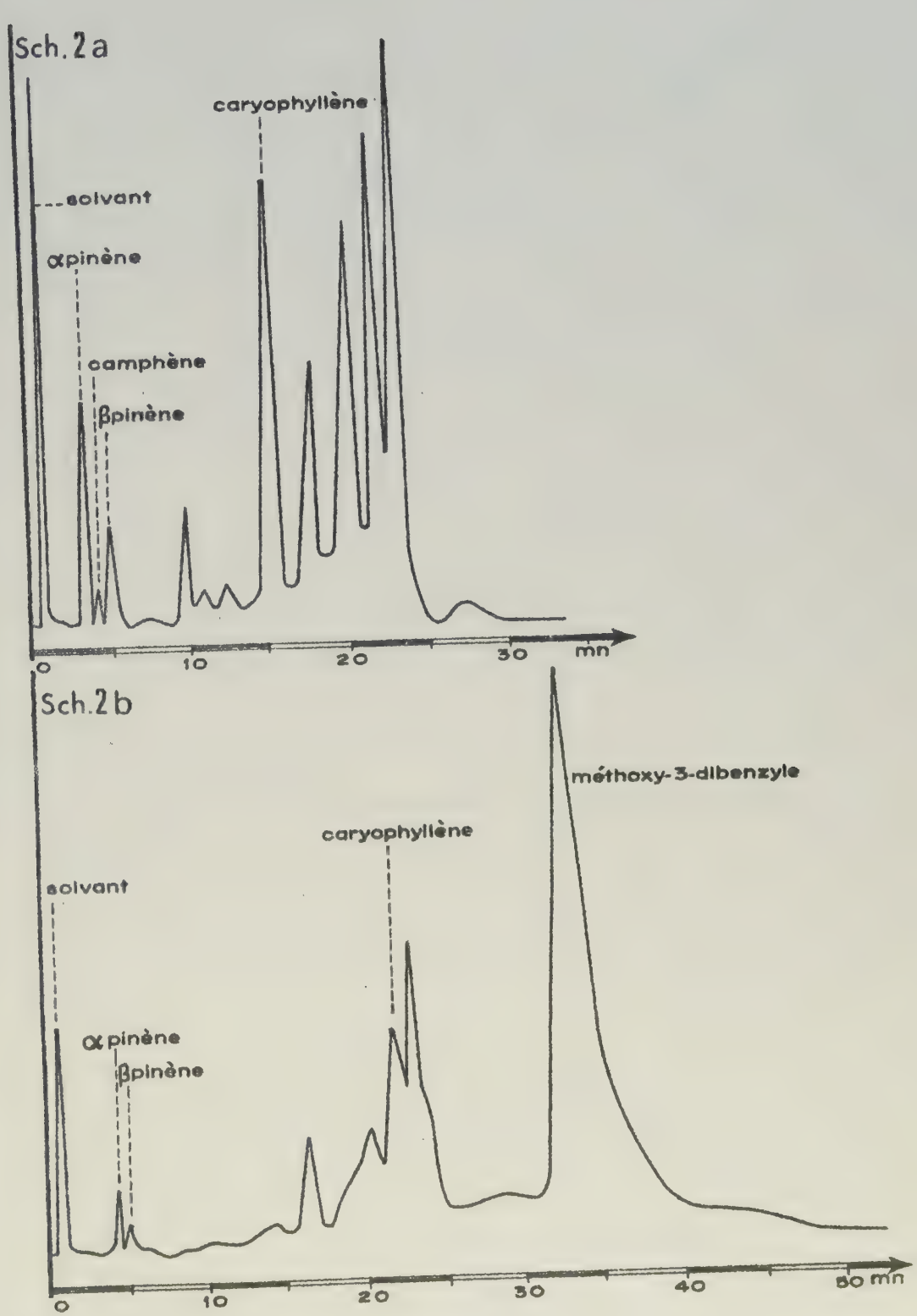
④ caryophyllène $C_{15}H_{24}$ ⑤ méthoxy-3-dibenzyle $C_{15}H_{16}O$

Ci-dessus: Formule chimique des composés identifiés dans l'essence extraite du thalle de Radula complanata.

Ci-contre: Schéma 2 - Chromatogrammes obtenus à partir de l'essence extraite du thalle de Radula complanata.

a - colonne Chromosorb imprégné de Carbowax.

b - colonne Chromosorb imprégné de GESF 96.

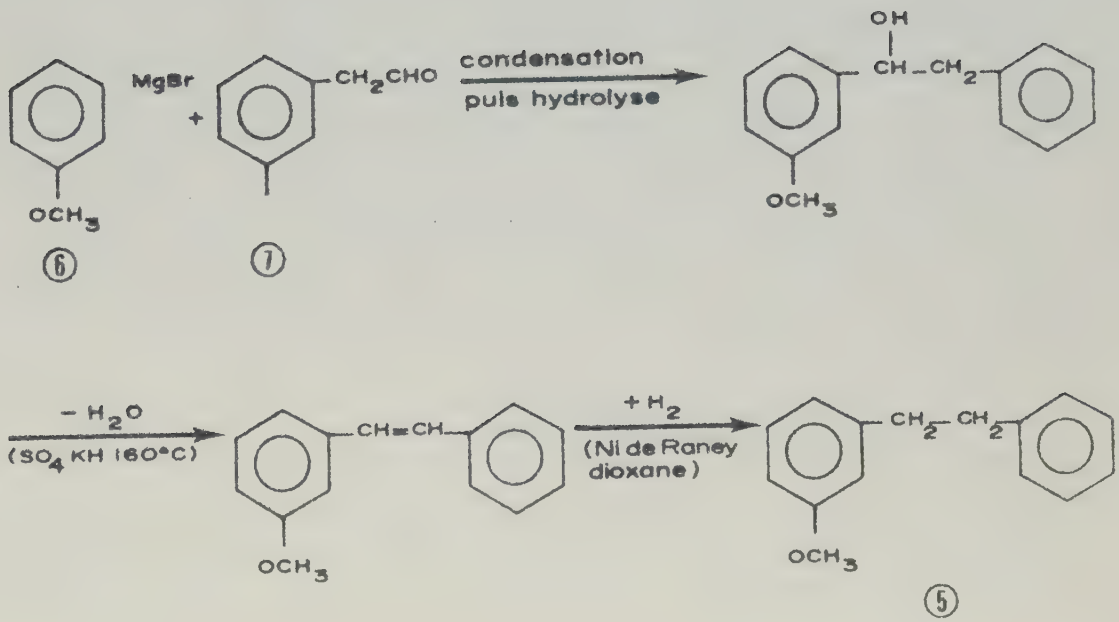

Sch. 2a
caryophyllène
solvant
αpinène
camphène
βpinène
0
10
20
30
mn
Sch. 2b
méthoxy-3-dibenzyle
caryophyllène
solvant
αpinène
βpinène
0
10
20
30
40
50 mn

b)- Avec une colonne emplie de chromosorb W 60/80 imprégné par 5 % de GESF 96 et une température augmentée de 3°C par minute entre 100 et 200°C, on a obtenu le chromatogramme 2b qui a permis de mettre en évidence des monoterpènes et des sesquiterpènes. Sur le chromatogramme, les carbures sont moins bien séparés que dans les conditions précédentes, mais un nouveau composé provoque la formation d'un pic très important. Ce composé n° 5 a été identifié par spectrométrie de masse au méthoxy-3-dibenzyle, de masse moléculaire 210. Il a été en outre isolé par distillation de l'essence brute. Sous 0,1 mm/Hg, deux fractions distillant à des températures nettement différentes peuvent être séparées.

- une première fraction de 0,7 g distille entre 30 et 110°C ; elle se montre constituée uniquement d'un mélange de carbures monoterpéniques et sesquiterpéniques.

- une seconde fraction de 0,7 g distille à 115°C. Son indice de réfraction à 20°C par référence à la raie D du sodium est de 1,5620. Elle a été identifiée au méthoxy-3-dibenzyle (5) par comparaison de son spectre infra-rouge, du spectre de masse et de celui de résonnance magnétique nucléaire avec les spectres correspondants du composé synthétisé à partir du dérivé magnésien du métabromoanisol (6) et du phényl-acétaldéhyde (7) selon le schéma suivant :

Schéma p. 59



Le pourcentage pondéral du dérivé (5) dans l'essence brute est de 50 % environ. Les synthèses du méthoxy-2-dibenzyle et du méthoxy-4-dibenzyle ont aussi été effectuées afin de vérifier leur absence dans l'essence de Radula.

Des extractions effectuées sur des thalles non broyés à l'aide de divers solvants, ont permis d'obtenir une substance contenant des lipides et une essence de même composition que celle obtenue par entraînement à la vapeur, c'est-à-dire contenant environ 50 % de méthoxy-3-dibenzyle.

D'autre part, la réaction nadi positive au seul niveau de l'oléocorps (voir ci-dessus) prouve que la

totalité de l'essence extraite provient de cette enclave. Une réaction caractéristique du méthoxy-3-dibenzyle a été recherchée en vain : il apparaît pourtant hautement probable que ce composé soit exclusivement localisé dans l'oléocorps.

En conclusion, l'essence de Radula est un mélange de trois monoterpènes, tous identifiés, de 6 sesquiterpènes isomères du caryophyllène dont la détermination fait actuellement l'objet de nouvelles recherches, ainsi que d'un composé méthoxylé, le méthoxy-3-dibenzyle.

5°)- Vacuome et ergastome :

Des dilatations du reticulum endoplasmique sont à l'origine de ces deux systèmes cellulaires. L'apparition d'un précipité floconneux dans les ergastosomes est, dans les cas favorables, le critère qui permet de distinguer le plus précocément vacuoles et ergastosomes. Malheureusement, ce critère n'est pas toujours utilisable, car les fluctuations intervenant au cours des manipulations préparatoires à l'observation entraînent des variations de la densité du précipité. Le premier critère vraiment sûr est la densification de la membrane des ergastosomes. Cette densification se fait à peu près en même temps que l'apparition de globules osmiophiles et, dès ce stade, aucune confusion ne peut être commise entre vacuoles et ergastosomes. Des divergences de plus en plus profondes se manifestent par la suite au cours du développement des deux systèmes cellulaires. Avant l'apparition du précipité osmiophile dans les ergastosomes ou la densification de leur paroi, aucun critère ne permet de distinguer les éléments appartenant au vacuome de ceux appartenant à l'ergastome ; il est donc très probable que, dans leurs stades initiaux, les ébauches de vacuoles et d'ergastosomes sont morphologiquement semblables et représentent des dilatations locales d'un même système structural, le reticulum endoplasmique. Vacuome et

ergastome ont une origine commune, mais à notre avis, leur évolution est totalement indépendante à partir des stades les plus précoces du développement ontogénique.

II - Exemple de Pellia epiphylla.

1°)- Evolution de l'ergastome :

Certains stades de la genèse de l'ergastome ont été observés dans divers tissus gamétophytiques ou sporophytiques. Des enclaves en rapport avec le reticulum endoplasmique existent dans les cellules de la région apicale du thalle et dans celle du pédicelle de jeunes sporogones. Les ergastosomes plus évolués (fig. 4, pl. 7) ont des globules osmiophiles et une membrane dense comme ceux de Radula. Des ergastosomes pourvus de globules peu osmiophiles se différencient dans les spores constituées d'au moins dix cellules.

Toutes les observations effectuées chez Pellia recoupent celle faites chez Radula et permettent de conclure à une évolution comparable de l'ergastome chez ces deux espèces.

2°)- Constitution chimique de l'essence extraite du thalle :

Une essence extraite du thalle par entraînement à la vapeur d'eau surchauffée a été étudiée suivant les mêmes méthodes que celles employées pour Radula. L'essence est uniquement constituée de carbures terpéniques dont l'identification est en cours ; elle ne contient aucun composé méthoxylé et en particulier pas de méthoxy-3-dibenzyle.

---oOo---

C H A P I T R E III

CONCLUSIONS ET DISCUSSION

---oOo---

I - Conclusions :

L'ergastome est un système structural propre à la cellule des Hépatiques ; il est constitué d'ergastosomes, dont l'état le plus évolué est habituellement appelé "oléocorps". Comme le vacuome, l'ergastome tire son origine du reticulum endoplasmique et les deux systèmes évoluent indépendamment l'un de l'autre. Les ergastosomes naissent comme des dilatations localisées du reticulum dans lesquelles apparaît un précipité légèrement osmiophile. Ces enclaves s'allongent et se dilatent alors que la couche interne de leur membrane tripartite se densifie par accolement d'un dépôt osmiophile. Ces éléments incorporent des plastoglobules particulièrement volumineux qui ont été préalablement libérés dans le hyaloplasme : les plastoglobules incorporés sont, selon toute vraisemblance, à l'origine des premiers globules osmiophiles qui apparaissent dans l'ergastosome. Celui-ci perd rapidement cette possibilité d'incorporation et synthétise alors la totalité de ses constituants. Le nombre des globules, l'osmiophilie de la substance interstitielle et le volume de l'ergastosome augmentent ensuite régulièrement, alors que les connexions avec le reticulum endoplasmique disparaissent.

Les observations relatives à la dilatation de l'ergastosome ne peuvent évidemment pas recevoir une confirmation directe après fixation. Il est possible que la vitesse du phénomène soit accentuée par les conditions d'observation (traumatisme provoqué par le prélèvement de l'organe et pression exercée par la lamelle), mais elle peut aussi trouver une explication dans la rupture des trabécules cytoplasmiques (visibles sur électromicrographies) qui se trouvent au voisinage de l'enclave, sous l'effet d'une augmentation de la turgescence de l'ergastosome.

Les ergastosomes sont de forme irrégulière et plusieurs enclaves visibles dans la même cellule, sur électromicrographie, peuvent ne représenter que les coupes d'un seul élément.

L'oléocorps, terme de l'évolution du système, est une enclave qui contient des globules d'essence en suspension dans une solution non osmiophile.

II - Discussion :

Ces conclusions ne sont pas en accord avec celles d'autres chercheurs ; il est donc nécessaire de confronter nos interprétations avec d'autres travaux effectués sur l'ergastome. Nous envisagerons successivement trois problèmes.

1°)- Origine de l'ergastome :

A - Origine plastidiale :

Certains auteurs attribuent une origine plastidiale aux globules dont l'accumulation dans le cytoplasme constitue, selon eux, l'oléocorps. J.H. WAKKER (1888) considère les oléocorps comme des chloroplastes dégénérés emplis de gouttelettes oléagineuses. Pour A. MIRIMANOFF (1939), les oléocorps d'Haplozia ne sont que des chloroplastes désorganisés par une réhydratation

trop brutale. A. KOZLOWSKI (1921) voit des gouttelettes réfringentes s'échapper des plastes et s'accumuler dans le cytoplasme.

Ces trois conceptions sont très éloignées de notre interprétation : nous pensons en effet que l'ergastome ne tire pas son origine du plastidome. Chez Radula, des globules osmiophiles se forment dans les chloroplastes des jeunes cellules et certains se dispersent dans le hyaloplasme. Mais l'oléocorps n'est pas un amas de gouttelettes lipidiques au sein du cytoplasme : c'est une enclave à essence faisant partie d'un système cellulaire spécial.

B - Origine vacuolaire :

A.J.M. GARJEANNE (1903) puis P. DOMBRAY (1926) considèrent l'oléocorps comme une simple vacuole dans laquelle s'accumulent diverses substances. J.L. VERDIER (1965) et K. PIHAKASKI (1966) considèrent aussi l'oléocorps comme une accumulation de globules dans une vacuole.

Nous ne partageons pas l'idée d'une "origine vacuolaire"; vacuome et ergastome naissent tous deux de différenciations du reticulum endoplasmique qui, morphologiquement semblables au cours de leurs stades initiaux, évoluent de manière totalement indépendante. Dans ces conditions, il ne peut y avoir "origine vacuolaire" puisque les ergastosomes n'ont pas la valeur de vacuoles.

C - Origine purement cytoplasmique :

P. GAVAUDAN (1931) considère l'ergastome comme un système d'origine cytoplasmique qui n'a avec le vacuome que des relations de proximité. M.L. CARBONNIER et P. GAVAUDAN (1960) suggèrent que le "système ergastoplasmique" ou un "système micro-

sacculaire" est lié à la genèse de l'ergastome, chez Madotheca platyphylla. La première éventualité nous paraît plus vraisemblable que la seconde car, chez Radula comme chez Pellia, l'intervention de productions d'origine golgienne n'a été observée à aucun moment de la genèse de l'ergastome (voir p. 52).

Mlle K. PIHAKASKI (1968) pense que les oléocorps de Bazzania trilobata et ceux de Lophozia ventricosa tirent leur origine de "dense bodies" et de "lipid bodies" intracytoplasmiques. D'après cet auteur, il se différencie autour de ces complexes un cytoplasme dépourvu de système membranaire, ainsi qu'une membrane tripartite : le cytoplasme devient le stroma de l'oléocorps et la membrane sa paroi. Chez les deux espèces qui ont fait l'objet de nos recherches, rien de semblable n'a été mis en évidence. L'évolution de l'ergastome ne met pas en jeu plusieurs types d'éléments : il s'agit toujours d'enclaves dérivées de dilatations localisées du reticulum endoplasmique. Les fluctuations de l'osmiophilie des globules et de la substance fondamentale sont dues à des modifications de leur nature chimique et à des variations de l'extraction provoquée par les traitements préparatoires à l'inclusion des tissus dans la résine. Enfin, l'ergastosome n'est jamais en relation avec le hyaloplasme et l'ensemble de nos recherches nous amène à exclure toute possibilité de pénétration du cytoplasme dans les ergastosomes : chez Radula et Pellia, la substance fondamentale de l'ergastosome est un produit élaboré au sein de l'enclave, au même titre que les globules d'essence.

2°)- Présence d'une membrane externe :

C.M. GOTTSCHE (1843) a mis en évidence une membrane limitant l'oléocorps. Ce fait est nié par W. PFEFFER (1874) et divers chercheurs, pour lesquels cette limite est un artefact de coagulation. A.J.M. GARJEANNE (1903) nie l'existence d'une pa-

roi propre à l'oléocorps, dont les substances constituantes sont entourées d'une membrane plasmique vivante, identique à celle qui contient le suc vacuolaire, le tonoplaste. P. DOMBRAY (1926) nie aussi l'existence d'une paroi spécifique : pour lui, la paroi supposée n'est qu'une apparence résultant du contact du cytoplasme avec une substance de tension superficielle différente. Or, d'après nos recherches, les oléocorps possèdent une paroi propre, différente de la membrane vacuolaire.

La confusion qui règne dans les travaux anciens se retrouve aussi dans des recherches effectuées en microscopie électronique. J.L. VERDIER (1965) étudie les propagules de Lunularia cruciata. Le "corps central" de l'oléocorps est limité par une "membrane simple" à laquelle se trouve accolé un matériel granulaire dense aux électrons ; les globules périphériques sont limités par un liseré dense "qui n'est peut-être qu'une membrane d'interphase". Autrement dit, le corps central serait limité par une membrane tripartite ("unit membrane" de ROBERTSON) et les globules par une membrane tripartite ou par un liseré osmiophile dépourvu de structure. Corps central et globules périphériques sont contenus dans une vacuole (à membrane tripartite). La structure tripartite de la "membrane" du corps central de l'oléocorps n'est pas résolue sur la fig. 1, pl. X, publiée par l'auteur. Chez Radula et Pellia, les globules de l'oléocorps sont limités par un liseré dense unistratifié qui résulte d'un dépôt d'osmium à la surface de ces inclusions.

Pour Mlle K. PIHAKASKI (1966), l'oléocorps de Bazzania "is bounded by a well-contrasted membrane which is enveloped by a second, much thinner membrane" ... (which) "ressembles the smooth membrane of endoplasmic reticulum and does not al-

ways cover the oil body completely"(1) (p. 398). Chez Radula et Pellia, cette seconde membrane n'a jamais été mise en évidence.

K. PIHAKASKI semble abandonner l'idée de la seconde membrane en 1968 et décrit les oléocorps de Bazzania et Lophozia comme limités par une membrane tripartite à couche interne épaissie. Cette structure est identique à celle observée chez Pellia et Radula, ce qui constitue du reste un argument en faveur de l'identité de l'évolution de l'ergastome chez les Hépatiques. La paroi des ergastosomes est une membrane tripartite (Sch. 1a) ; un dépôt de substance osmiophile s'effectue à la périphérie interne de l'enclave (Sch. 1b) et la partie externe de ce dépôt se condense en un liseré dense, qui s'accole au feuillet interne de la paroi (Sch. 1c).

3°)- Constitution chimique de l'essence extraite du thalle :

Les essences extraites des thalles de Radula et de Pellia sont des mélanges de monoterpènes et de sesquiterpènes. L'essence de Radula contient en outre 50 % de méthoxy-3-dibenzyle. Ce composé, qui semble jusqu'ici inconnu à l'état naturel, a été identifié, puis isolé par distillation fractionnée de l'essence. De plus, M. et Mme G. BOURGEOIS ont réalisé la synthèse des 3 isomères du méthoxy-dibenzyle afin de vérifier le bien fondé de l'identification du produit naturel.

D'autres recherches chimiques effectuées sur diverses Hépatiques montrent que la composition des essences extraites est variable. C'est ainsi que K. MULLER (1905) signale la présence

---

(1)- L'oléocorps "est limité par une membrane bien contrastée qui est enveloppée par une seconde membrane plus mince"... (qui)"ressemble à la membrane du reticulum endoplasmique agranulaire et n'englobe pas toujours complètement l'oléocorps".

d'alcools terpéniques chez quatre Jungermanniales ; de tels composés ne se trouvent pas dans les essences que nous avons étudiées. S. HUNECK et E. KLEIN (1967) ont isolé un sesquiterpène, le (-) longifolène, et un alcool sesquiterpénique, le (-) longibornéol, de l'essence extraite de Scapania undulata. D. MEUCHE et S. HUNECK (1966) ont extrait par le pentane une essence du thalle de Calypogeia trichomanis et ont isolé deux azulènes : le 1-4 diméthylazulène et le 4-méthyl-1-méthoxycarbonylazulène.

En conclusion, nous pensons avoir apporté une contribution à la connaissance de l'ergastome en montrant que ce système particulier à la cellule des Hépatiques tire son origine du reticulum endoplasmique et élabore principalement des essences. De profondes divergences séparent nos résultats de ceux de recherches, mêmes récentes, effectuées par d'autres auteurs, et soulignent la nécessité de nouvelles études. Des recherches biochimiques et enzymologiques en particulier permettraient de mieux comprendre le mécanisme de l'élaboration du contenu des ergastosomes. Cet aspect du problème ne nous a pas échappé et nous avons l'intention d'orienter de nouveaux travaux dans ce sens.

Pour terminer, il nous paraît bon de mettre l'accent sur la diversité des constituants synthétisés par le reticulum endoplasmique et sur celle des systèmes cellulaires auxquels il donne naissance. Chez Radula complanata, le reticulum endoplasmique se trouve à l'origine d'un important système cellulaire élaborateur d'une essence et élabore des formations protéiques pseudocristallines semblables à celles étudiées par exemple par J. FIGIER (1968, 1969) chez Mercurialis annua ainsi que par de nombreux auteurs dans les matériaux les plus divers.

Chez d'autres cellules, il se trouve à l'origine de formations lipoprotéiques, telles que les formations "en cotte de mailles" décrites par J. EYMÉ (1963, 1967) dans les nectaires de Renonculacées ou de Crucifères et retrouvées depuis par plusieurs auteurs dans des tissus animaux et végétaux. De nombreux travaux montrent que le reticulum est à l'origine de vacuoles, dans lesquelles s'accumulent par la suite des composés de nature diverse. Enfin, le reticulum est à l'origine de la paroi nucléaire et nous passons sous silence la multiplicité des aspects sous lesquels il peut se présenter.

*

* *

T R O I S I E M E P A R T I E

LA SPOROGENESE

---oOo---

INTRODUCTION

I - RECHERCHES CYTOLOGIQUES EFFECTUEES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE SUR LA SPOROGENESE DES HEPATIQUES :

L'un des premiers chercheurs à rendre compte d'observations cytologiques précises sur la sporogénèse des Hépatiques, et en particulier sur celle de Frullania dilatata, est M. LECLERC DU SABLON (1885). J.B. FARMER (1894-1895) décrit l'évolution du noyau des sporocytes de différentes espèces. D'après cet auteur, il se constitue au cours de la méiose un fuseau à 4 pôles ; ce fait est nié par d'autres chercheurs (B.M. DAVIS, 1901 ; A.C. MOORE, 1903 ; C. SUIRE, 1966). Par la suite, les phénomènes de la sporogénèse, et particulièrement l'évolution nucléaire, sont suivis chez un certain nombre d'espèces des trois ordres.

- Marchantiales :

Corsinia marchantioides K. MEYER (1911, 1914).
Fegatella conica K. MEYER (1929).
Marchantia palmata K.S. SRINIVASAN (1944).
Plagiochasma K. MEYER (1913).
Preissia commutata Mlle M. GRAHAM (1913).
Preissia quadrata A.W. HAUPT (1926).
Reboulia hemisphaerica W.L. WOODBURN (1920).
A.W. HAUPT (1921).
Mlle M.C. BLAIR (1926).
Riccia glauca R. BEER (1906).

- Metzgériales :

Pellia epiphylla est une des Hépatiques les plus étudiées. J.B. FARMER (1895) y décrit la méiose. Sa conception du fuseau à quatre pôles est combattue par B.M. DAVIS (1901). B.M. DAVIS (1901), C.J. CHAMBERLAIN (1903), V. GREGOIRE et J. BERGHS (1904) étudient la formation du fuseau achromatique et le comportement des chromosomes au cours des divisions de la spore. P. GAVAUDAN (1930) fait connaître les premiers détails sur le vacuome et l'ergastome de la spore. Enfin, nous nous sommes attaché (1966) à décrire l'évolution des constituants cytoplasmiques au cours de la sporogénèse.

L'étude du genre Sphaerocarpus revêt une importance particulière puisque c'est sur S.donnellii que furent découverts les premiers chromosomes sexuels chez les végétaux (C.E. ALLEN, 1917).

Parmi les autres Metzgériales étudiées, certaines ont fait l'objet d'études particulièrement développées.

Aneura pinguis Mlle G.L. CLAPP (1912).
R. FLORIN (1924).
Fossombronia longiseta H.B. HUMPHREY (1906).
Fossombronia pusilla G. CHALAUD (1929).
Pallavicinia decipiens J.B. FARMER (1894).
Pallavicinia lyellii A.C. MOORE (1903).

- Jungermanniales : ce groupe a été peu étudié dans l'ensemble.

Chiloscyphus polyanthus R. FLORIN (1919).
Frullania dilatata M. LECLERC DU SABLON (1885).
C. SUIRE (1966).
Radula complanata C. SUIRE (1966).

II - RECHERCHES ULTRASTRUCTURALES SUR LA SPOROGENESE DES BRYOPHYTES :

Les travaux consacrés aux Bryophytes sont peu nombreux ; nous nous y reporterons dans la discussion de nos résultats.

- Chez les Hépatiques, H.T. HORNER et coll. (1966) étudient la formation des parois des sporocytes et des spores d'Aneura pinguis.

- Chez les Mousses, D.J. PAOLILLO (1964) observe les modifications structurales du plaste au cours de la sporogénèse chez Polytrichum commune et met en évidence un étirement des granums au cours d'une phase préméiotique. L. GENEVES (1966) étudie le comportement des plastes dans le tissu sporogène d'Hypnum rusciforme et montre la rareté des systèmes lamellaires dans le plaste foliacé. J. EYTÉ et C. SUIRE (1969) suivent chez divers Mnium et chez Atrichum undulatum les modifications du chondriome et du plastidome au cours de la sporogénèse ; ils mettent en évidence un étirement des granums au cours de la lamination du plaste et une altération des mitochondries qui se manifeste par leur élongation, la densification de leur matrice et enfin la fragmentation des éléments allongés. Le chondriome est rénové dans les méioto - spores.

---oOo---

C H A P I T R E I

RECHERCHES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE

---oOo---

Le déroulement de la sporogénèse s'étend de la fusion des noyaux sexuels jusqu'à la libération des spores. Elle comprend donc la totalité de la phase diploïde et le début de la phase haploïde correspondant à l'édification et à la maturation de la spore. Ces phénomènes ayant fait l'objet chez quelques espèces d'observations antérieures de notre part (1966), nous nous bornons dans le présent exposé à préciser les principaux traits de l'évolution du tissu sporogène chez les deux espèces dont l'étude a été reprise en microscopie électronique.

I - La sporogénèse chez Pellia epiphylla :

1°)- L'archesporium :

L'oeuf qui résulte de la fécondation de l'oosphère se cloisonne. Il est à l'origine d'un massif de cellules polyédriques toutes semblables : le proembryon. Lorsque cet organe est constitué, les divisions cellulaires y deviennent rares. Le grandissement cellulaire est accompagné d'un accroissement de la taille des vacuoles. Ainsi, lorsque le proembryon est constitué d'une douzaine d'éléments, ses cellules ne contien-

nent que des vacuoles de petite taille ; lorsqu'il est formé d'une cinquantaine de cellules, chacune renferme un vacuome très développé. Le rapport nucléo-cytoplasmique devient alors inférieur à 1/4. Durant cette évolution, le noyau interphasique, dont le diamètre est d'environ 6 à 7 µ, est pourvu d'un nucléole de 2 à 3 µ, souvent entouré de chromocentres.

Des cloisonnements en direction péricline déterminent dans la partie supérieure du proembryon une paroi et une zone sporogène ou archesporium. La partie inférieure du sporogone acquiert une forme conique ; le proembryon est ainsi devenu un embryon typique dans lequel se distinguent trois régions : la capsule (paroi et archesporium), le pied et une région intermédiaire, le pédicelle.

Dès lors, des cloisonnements très actifs au niveau de l'archesporium entraînent une augmentation considérable du nombre des cellules sporogènes. En conséquence, leur volume moyen décroît, l'importance du vacuome s'atténue alors que le rapport nucléo-cytoplasmique augmente (fig. 1, pl. 2). Ces faits suggèrent deux remarques : la multiplication cellulaire active s'effectue sans augmentation du volume de l'archesporium ; au cours de cette phase, les cellules acquièrent des caractères méristématiques qu'elles n'avaient pas dans le proembryon.

2°)- Evolution de la zone sporogène :

L'arrêt des cloisonnements dans l'archesporium marque le début d'une nouvelle phase au cours de laquelle l'accroissement du volume cellulaire s'accompagne d'une augmentation considérable de la taille de la zone sporogène. En outre, deux lignées cellulaires se différencient : leur évolution aboutit à l'individualisation des sporocytes et des élatères.

La période de différenciation qui suit la multiplication des cellules dans l'archesporium est caractérisée par une aug-

mentation du volume cellulaire ainsi que par l'accroissement du volume des chloroplastes ; d'autre part, la vacuolisation du cytoplasme s'accentue progressivement (fig. 2, pl. 2). L'évolution se poursuit par une phase au cours de laquelle les cellules apparaissent séparées et condensées : les cellules ne forment plus un véritable tissu et leur protoplasme est en grande partie dépourvu de vacuoles (fig. 3, pl. 2). L'irrégularité du contour cellulaire est due à la persistance d'expansions en direction de plasmodesmes. Cet aspect rappelle celui de cellules altérées par une plasmolyse brutale mais, malgré les apparences, il ne doit pas être interprété comme un artefact de fixation : il s'agit d'un processus normal au cours duquel les cellules du sac sporogène deviennent indépendantes les unes des autres. Leur séparation est consécutive à une déshydratation du vacuome et à la formation d'un gel périphérique. Les parois cellulaires persistent quelque temps (fig. 3, pl. 2), puis se résolvent progressivement en un gel. Les phénomènes qui viennent d'être décrits débutent dans la région centrale de la capsule et atteignent progressivement les éléments périphériques.

C'est au sein de cette population cellulaire homogène que se manifestent des potentialités bien distinctes, qui conduisent à l'individualisation de deux types d'éléments : les sporocytes, qui subissent la méiose, et les élatères, qui demeurent diploïdes.

3°)- Constitution de l'élatérophore et évolution des élatères :

La plupart des élatères d'une capsule de Pellia demeurent libres parmi les spores ; les autres sont rattachés par une extrémité à un élatérophore, qui peut être interprété (M. CHADEFAUD, 1960) comme un vestige de columelle. L'élaté-

rophore est, chez cette espèce, une expansion conique qui surmonte le sommet du pédicelle. Il est constitué de cellules basales du sac sporogène qui n'augmentent pas de volume et dont les parois s'épaississent légèrement. Il est à noter que les éléments constituant l'élatérophore n'évoluent ni comme les élatères (absence d'allongement), ni comme les cellules du pédicelle (épaississement des parois), mais comme les cellules pariétales de la capsule.

Certaines cellules indifférenciées du sac sporogène acquièrent une forme cylindrique par étirement et réduction de leur calibre (fig. 4b, pl. 2). Au cours de l'allongement, leur contour devient sinueux et une paroi propre s'édifie à leur périphérie ; à la différence de celle des sporocytes, elle demeure mince et non ornementée. Le noyau, allongé suivant le plus grand axe de l'élatère, occupe une position en général médiane ; certains chromocentres se répartissent autour du nucléole. Les chloroplastes sont amylifères, pauvres en chlorophylle et demeurent de plus faible taille que ceux des cellules mères de spores. Une coloration vitale au Rouge neutre met en évidence des vacuoles volumineuses chez les élatères les plus évolués. Les vacuoles des extrémités d'un élatère qui n'a pas atteint sa taille définitive, ont un volume plus réduit et un pH plus acide que les vacuoles de la région moyenne ; ces différences ne se retrouvent pas dans des élatères en fin d'évolution.

Lorsque les cellules-mères de spores sont en méiose, une double spirale, d'abord hyaline, puis brune, s'édifie contre la face interne de la paroi cellulaire. Le volume cellulaire est alors presque totalement occupé par quelques vacuoles ; le noyau et le cytoplasme deviennent souvent sidérophiles et dégénèrent. En fin d'évolution, un élatère de capsule mûre mesure environ 180 µ de longueur et 7 µ de diamètre.

4°)- Evolution des sporocytes :

Les cellules-mères de spores, après leur isolement dans le gel intercellulaire et la condensation de leur protoplasme, sont déformées par les trabécules cytoplasmiques qui demeurent rattachés à certaines régions de la paroi cellulaire. Par la suite, ces trabécules se rompent, le contour cellulaire se régularise et les cellules deviennent globuleuses (fig. 3a, pl. 2). Enfin, une nouvelle paroi cellulaire s'édifie progressivement.

Lorsque les sporocytes ont de 40 à 45 µ de diamètre, chaque cellule émet quatre prolongements massifs. Les régions apicales des lobes sont disposées dans l'espace comme les sommets d'un tétraèdre régulier dont le noyau occuperait le centre. Chaque lobe s'étire et devient ovoïde. Les constituants cytoplasmiques figurés sont plus abondants à la périphérie de chaque lobe, alors que les vacuoles sont plus nombreuses et plus volumineuses dans la région centrale.

Avant d'entrer en méiose, les cellules atteignent 130 µ de diamètre (fig. 4a, pl. 2) ; chaque lobe mesure 30 × 55 µ et contient environ 300 chloroplastes très amylifères. Après la méiose, chaque lobe reçoit un noyau et s'individualise en une tétraspore. Deux couches se différencient dans la paroi cellulaire ; l'exine de la paroi sporale s'érige en piliers qui sont à l'origine d'une ornementation en relief au dessin irrégulier.

Les spores sont à prégermination. Avant de s'individualiser, chaque spore se cloisonne au moins une ou deux fois. Au moment de leur libération, les spores sont constituées de 9 à 12 cellules ; elles ont une forme ovoïde et mesurent environ 60 × 100 µ. Le volume de la spore est donc plus important que celui d'un des lobes du sporocyte.

La comparaison des dimensions des cellules du proembryon avec celles des cellules-mères de spores met en relief une augmentation considérable du volume cellulaire et une synthèse de cytoplasme. Quant au nombre des plastes, il passe d'une vingtaine à plus d'un millier ; les réserves amylacées s'accroissent dans les mêmes proportions.

II - La sporogénèse chez Radula complanata :

1°)- L'archesporium :

Les premiers cloisonnements du sporophyte donnent naissance à un proembryon constitué de deux parties distinctes : une cellule basale (le suspenseur) et un massif de cellules plus ou moins vacuolisées, pourvues chacune de plusieurs chloroplastes et d'oléosomes. Une première phase de cloisonnement intense est suivie d'une période de plus faible activité mitotique pendant laquelle les cellules augmentent de volume et s'agencent en quelques files longitudinales. Une seconde phase de cloisonnement cellulaire actif aboutit à une augmentation considérable du nombre des cellules sporogènes. L'arrêt des divisions dans le sac sporogène est suivi de la différenciation progressive des deux types cellulaires (élatères et sporocytes) mais, à la différence de Pellia, l'individualisation des cellules ne s'accompagne pas d'une condensation protoplasmique.

2°)- Evolution des élatères :

Elle est très semblable à celle des élatères de Pellia. L'édification de la spirale lignifiée ne commence que lorsque les spores d'une même tétrade se séparent.

3°)- Evolution des sporocytes :

Le cytoplasme se distribue en quatre lobes qui deviennent de plus en plus sphériques. Le diamètre de la cellule passe de 15 à 65 µ. La paroi cellulaire apparaît de moins en moins épaisse mais de plus en plus dense. Comme chez Pellia, le centre des lobes est plus vacuolisé que la périphérie. De profondes différences séparent par ailleurs ces deux espèces : les cellules-mères de spores de Radula sont moins volumineuses et plus riches en oléosomes que celles de Pellia et d'autre part les chloroplastes de Radula ne sont jamais amylifères.

La méiose débute par un léger gonflement du noyau et par l'émission d'une expansion nucléaire dans chaque lobe. Elle se déroule sans intervention de centrosomes ou d'asters. Le fuseau de première division s'édifie dans l'isthme qui relie les quatre lobes. Les deux fuseaux de seconde division sont orthogonaux.

Un noyau se reconstitue dans la région centrale de chaque lobe. Des parois s'édifient et un méat se forme entre les quatre spores qui sont alors unies par l'intine. Des piliers coniques se différencient dans l'exine et les spores se séparent. Lors de leur émission, elles sont unicellulaires ; chloroplastes et oléosomes y sont nettement plus abondants que dans les lobes des cellules-mères.

III - Remarques :

1°)- Comparaison avec les Mousses :

Chez les Hépatiques, la méiose se déroule dans une cellule pourvue de nombreux chloroplastes semblables à ceux des cellules sporogènes du jeune embryon ou à ceux des spores. Il

n'y a donc pas, comme chez les Mousses, un retour à un état "archéoplastidié" (M. CHADEFAUD, 1960), avec un seul plaste par cellule. D'autre part, les plastes se bipartissent mais ne subissent pas de remaniements structuraux comparables à ceux des sporocytes de Mousses (expansion et amincissement du stroma).

2°)- Ségrégation et différenciation des deux lignées cellulaires :

Partant de cellules indifférenciées, la ségrégation de deux lignées distinctes pose un problème non résolu ; nous ignorons en effet l'origine du mécanisme qui déclenche la différenciation des élatères, alors que les cellules voisines évoluent en sporocytes. L'analyse cytophysiologique et expérimentale de ces éléments fera peut-être connaître, dans l'avenir, les modalités de leur évolution propre.

Quelle que soit la genèse de ces deux lignées, leur constitution cytologique est parfaitement définie :

a)- Le volume d'un élatère en fin d'évolution est bien inférieur à celui d'un sporocyte.

b)- Les phénomènes de différenciation atteignent les éléments du plastidome. Les plastes des élatères conservent la même constitution, tandis qu'ils s'accroissent en volume et que leur nombre devient considérable dans les sporocytes.

c)- Le rapport volumétrique vacuoles/cytoplasme est beaucoup plus élevé dans les élatères âgés que dans les sporocytes ou les spores.

En somme, les élatères offrent un exemple de dégénérescence cytoplasmique comparable à celui qui est connu dans les fibres, les trachéides ou les vaisseaux du xylème des Plantes supérieures, dont l'ornementation pariétale suggère un rapprochement avec celle des élatères.

d)- La différenciation des deux lignées cellulaires est plus ou moins précoce. Chez Frullania dilatata, les élatères se distinguent des autres éléments du sac sporogène dès les premières divisions de l'archesporium par l'absence de cloisonnement transversal ; chez cette espèce, les élatères sont donc reconnaissables avant l'achèvement de la multiplication des sporocytes. Chez Radula complanata et Pellia epiphylla ainsi que chez la majorité des Hépatiques, la différenciation des deux lignées cellulaires ne s'opère qu'à la suite de l'arrêt des divisions dans le sac sporogène.

Enfin, la disposition des élatères dans la capsule est parfaitement régulière chez Frullania ; elle l'est beaucoup moins chez Radula, Pellia et un grand nombre d'espèces. Chez Radula, les élatères sont schématiquement disposés selon des courbes qui divergent légèrement à partir du sommet du pédicelle. L'orientation des constituants du sac sporogène traduit donc un processus de différenciation ordonnée dont le déterminisme nous échappe.

---oOo---

CHAPITRE II

RECHERCHES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE CHEZ PELLIA EPIPHYLLA

---oOo---

I - Les cellules du proembryon :

Les cellules du proembryon sont polyédriques et toutes semblables. Dans leur cytoplasme, les mitochondries sont en majorité sphériques (0,8 à 1,2 µ de diamètre) ; elles possèdent une matrice claire et des tubules peu nombreux et courts. Les plastes sont globuleux, d'environ 1,5 à 2 µ de diamètre ; leur stroma est finement granuleux, avec parfois des vésicules et quelques inclusions amylifères de petite taille; les thylacoïdes sont peu nombreux, isolés ou rassemblés par deux ou trois. Les dictyosomes sont rares : ils sont constitués de 3 à 5 saccules d'environ 1 µ de diamètre, desquels se détachent de rares vésicules. Dans le cytoplasme sont dispersés quelques oléosomes de 0,5 à 1 µ de diamètre, ainsi que de nombreux petits groupes de ribosomes. Les travées du reticulum endoplasmique sont peu développées et le plus souvent agranulaires. Certaines sont dilatées en enclaves de taille variable que nous rattachons au système vacuolaire de la cellule ; d'autres, plus volumineuses, résultent apparem-

ment de la confluence de plusieurs éléments. Enfin, chaque cellule contient quelques vastes vacuoles visibles en microscopie photonique ; ces enclaves sont aplaties dans le sens transversal et demeurent perpendiculaires à l'axe du sporogone.

En résumé, les cellules du proembryon présentent dans l'ensemble des attributs d'éléments méristématiques (chloroplastes à système lamellaire réduit, nombreuses petites vacuoles, mitochondries de petite taille, ...) mais la présence de quelques volumineuses vacuoles et celle d'inclusions amylacées intraplastidiales sont des signes moins significatifs.

II - La différenciation du sac sporogène :

Le premier signe de l'individualisation de la zone sporogène se manifeste à la suite de cloisonnements périclines qui déterminent une couche pariétale dans la partie supérieure du proembryon. Dès lors, deux phases essentielles se succèdent ; la première est caractérisée par un cloisonnement actif, la seconde est essentiellement une phase de grandissement cellulaire.

1°)- L'actif cloisonnement des cellules du sac sporogène entraîne une diminution de leur volume moyen et en particulier une réduction du vacuome (pl. 8). L'état d'indifférenciation est plus accentué à ce stade que dans les cellules du proembryon. Il faut noter cependant que la dédifférenciation des constituants cytoplasmiques est moins profonde chez les Hépatiques que dans d'autres groupes de Végétaux. Elle n'atteint pas notamment l'état de régression que l'on connaît chez les Mousses, ni celui mis en évidence dans les éléments méristématiques des plantes supérieures. D'autre part, le rythme des cloisonnements dans le sac sporogène est moins accéléré que celui des divisions du tissu spermatogène ; les parois cellulaires de l'archesporium s'édifient

en totalité entre deux cloisonnements, alors que les divisions des spermatogonies ne sont pas immédiatement suivies de l'édification de parois complètes.

2°)- A la phase de multiplication succède une phase d'accroissement du volume cellulaire qui est caractérisée par l'extension du vacuome et la synthèse de cytoplasme. Tandis que les cellules conservent une forme polyédrique, le nombre des dictyosomes croît, les chloroplastes augmentent de volume et se bipartissent ; leur lamellisation progresse et la synthèse amylacée devient active. Lorsque cette phase s'achève, les cellules mesurent 15 à 25 µ et se caractérisent par une vacuolisation importante de leur cytoplasme.

3°)- En fin d'évolution, le sac sporogène n'offre plus l'aspect d'un véritable tissu : les masses cellulaires sont isolées les unes des autres et séparées de leur paroi propre. Elles baignent dans un gel et peuvent être comparées à des microplasmodes indépendants (fig. 1, pl. 9).

L'examen d'un grand nombre d'images nous a permis de reconstituer le mécanisme de cette évolution. Les parois des cellules du tissu sporogène sont constituées d'une lamelle moyenne et d'une couche primaire. Lorsque ces cellules sont parvenues à un certain stade de leur développement, le plasmalemme apparaît largement invaginé ; ces invaginations correspondent, selon nous, à l'emplacement de vacuoles périphériques dont le contenu a été entièrement déversé dans l'espace péricellulaire à la faveur de ruptures localisées de la membrane ectoplasmique et du tonoplaste. Le suc vacuolaire provoque une hydratation des composés de la paroi primaire, qui gonflent et se transforment en un gel. Cette gélification entraîne une augmentation de pression, qui contribue au rassemblement du contenu cytoplasmique dans la région centrale de la

cellule. L'aspect étoilé du contour cellulaire est dû à la persistance de trabécules étirés aux niveaux de plasmodesmes. La lamelle moyenne demeure visible au sein du gel bien après l'individualisation des cellules, puisque des traces sont encore reconnaissables lorsque les sporocytes sont tétralobés. Elle s'estompe progressivement et les composés qui résultent de son hydrolyse concourent à la formation du gel intercellulaire, au même titre que ceux de la paroi primaire.

Pendant la phase de différenciation, chaque élément cellulaire du sac sporogène est pourvu d'un noyau central (fig. 1, pl. 9). Le cytoplasme est très peu vacuolisé. Les dictyosomes s'accroissent en nombre et émettent de très nombreuses vésicules claires. Les chloroplastes sont ovoïdes, atteignent 3 µ de longueur et sont amylifères ; leur stroma se montre granuleux et contient des vésicules à contenu clair ainsi que plusieurs ensembles de 2 à 4 thylacoïdes orientés suivant le plus grand axe du plaste. Le reticulum endoplasmique est le plus souvent agranulaire, localement dilaté en enclaves de forme irrégulière qui sont à l'origine de vacuoles. Les ribosomes sont nombreux et dispersés par petits groupes dans le cytoplasme. Ces cellules évoluent soit en sporocytes, soit en élatères.

III - L'évolution des élatères :

1°)- Les premiers stades de l'évolution des élatères :

La différenciation des élatères se manifeste par un allongement cellulaire progressif. Les cellules sont dépourvues de paroi propre ; dans le gel intercellulaire, des plages sombres représentent les traces de trabécules cytoplasmiques en relation avec des plasmodesmes. Pendant la progression de l'étirement, des travées de reticulum endoplasmique, localement dilatées en vésicules lenticulaires, se disposent à la périphérie de la cel-

lule ainsi qu'autour des plastes. Ceux-ci, d'abord amylifères, apparaissent plus nombreux et pour la plupart dépourvus d'amidon lorsque les sporocytes sont tétralobés (fig. 1, pl. 11) : c'est donc qu'au cours de l'étirement des élatères, les plastes se bipartissent activement et ne constituent pas de réserves amylacées. La matrice mitochondriale est claire et les tubules peu nombreux. Le vacuome est constitué de nombreuses enclaves de taille variable. Les oléosomes sont peu abondants, répartis par petits groupes dans la cellule. Les ribosomes sont abondants, mais rarement associés en polysomes.

Sporocytes et élatères demeurent dépourvus de paroi structurée tant qu'ils n'ont pas atteint leur taille définitive, c'est-à-dire jusqu'à un stade légèrement antérieur au déclenchement de la méiose dans les sporocytes. Chez les élatères en particulier, la périphérie cellulaire apparaît avant ce stade comme une zone mal séparée du gel dans laquelle se reconnaissent parfois des fibrilles lâchement entrelacées. Ces fibrilles deviennent plus nombreuses et se disposent parallèlement à la surface cellulaire, constituant un feutrage serré au contact du plasmalemme, plus lâche dans sa partie externe.

Lorsque la capsule contient des spores pluricellulaires, les élatères ont une paroi relativement épaisse (0,3 µ) ; sa partie externe est souvent soulignée d'un liseré dense et porte des protubérances opaques aux électrons. Sous cette paroi, le cytoplasme est déprimé en deux gouttières qui s'enroulent autour de l'élatère comme deux spirales de sens contraires. Chacune d'elles s'emplit d'une substance granulofibrillaire très dense aux électrons (fig. 4 et 5, pl. 11) qui devient par la suite un épaississement spiralé. Cet épaississement est surajouté côté interne à la paroi propre de l'élatère et la limite entre les deux formations est tou-

jours distincte. Certains dictyosomes émettent des vésicules claires, d'autres des vésicules sombres. Par ailleurs, des enclaves transparentes plus volumineuses se détachent du reticulum. Ces trois types d'éléments s'accolent au plasmalemme ; aussi pensons-nous que leur contenu, déversé dans la zone péricellulaire, participe à l'édification des différenciations pariétales.

Dans de telles cellules, les travées du reticulum endoplasmique sont disposées en manchons concentriques parallèles à la paroi de l'élatère, analogues aux feuilles enroulées d'un cigare. Ces manchons peuvent s'écarter les uns des autres, de sorte que l'externe demeure périphérique et que l'interne devient axial (fig. 5, pl. 11). La quasi totalité des travées se présente à l'état de doubles membranes irrégulièrement écartées et agranulaires. De vastes vacuoles allongées, résultant vraisemblablement de la coalescence d'enclaves de taille inférieure, s'édifient dans le cytoplasme (fig. 4, pl. 11). Les plastes contiennent de volumineuses inclusions amylacées (fig. 3, pl. 11) ; leur lamellation demeure plus rudimentaire et leur taille plus réduite que celles des plastes de sporocytes.

2°)- Les derniers stades de l'évolution des élatères :

La suite des phénomènes évolutifs au niveau de l'élatère présente une série de stades analogues, ainsi qu'on le verra, à ce qui est connu dans d'autres cellules végétales très différenciées et dont les caractéristiques sont voisines. Certains élatères apparaissent totalement dépourvus de ribosomes ; d'autres en montrent de nombreux, quelques-uns accolés au reticulum (fig. 2, pl. 11). En général, la matrice mitochondriale se densifie alors que les tubules demeurent clairs, parfois dilatés et sinueux (fig. 2, pl. 11) ; ces modifications ne sont pas sans rappeler celles des mitochondries de la spermatide de Pellia (voir IVe partie) ou les transformations du chondriome observées lors de la méiose au cours de la sporogénèse des Mnium

(J. EYMÉ et C. SUIRE, 1969). Au contraire, chez certains élatères, le chondriome se vésiculise ; les doubles membranes des vésicules se délaminent et leurs constituants évoluent en structures multilamellaires.

De nombreux dictyosomes subsistent au cours de cette évolution et émettent dans le cytoplasme des vésicules de petite taille, généralement denses aux électrons. Des vésicules de même opacité sont présentes dans des enclaves intracytoplasmiques que nous désignons sous le terme de "corps multivésiculaires", ainsi que dans des poches localisées sous les épaississements spiralés des élatères. Des formations identiques ont par ailleurs été reconnues dans la spore. Le rapprochement des observations effectuées dans les deux types de cellules nous amène à penser que les corps multivésiculaires représentent une forme de transport d'un groupe de vésicules golgiennes jusqu'à la paroi cellulaire et que la poche sous pariétale résulte de la fusion de l'enveloppe du corps multivésiculaire avec le plasmalemme. Dans ces conditions, les poches sous-pariétales sont homologues aux "lomasomes" selon la terminologie préconisée par R. MARCHANT et A.W. ROBARDS (1968). Ces observations sont à rapprocher de celles de H. LEHMANN (1968) qui décrit chez une Hépatique (Riella helicophylla) la participation à la formation de la plaque cellulaire d'enclaves formées par le reticulum et contenant des vésicules sombres. Comme chez Pellia, la formation de corps multivésiculaires est en rapport avec l'édification des parois.

Des masses très denses aux électrons, enveloppées ou non par une membrane simple (fig. 2, pl. 11) et entourées de travées appartenant au reticulum endoplasmique sont aussi présentes dans le cytoplasme. L'ontogenèse de ces formations n'a pas été suivie. Dans les stades les plus âgés que nous

ayons eu la possibilité d'observer, des plastes déformés porteurs de quelques vésicules amylifères, subsistent à la périphérie des élatères, alors que la région axiale est occupée par une volumineuse vacuole.

IV - L'évolution des sporocytes :

D'importantes transformations morphologiques se déroulent dans le sporocyte préméiotique (voir chapitre I). Nous avons recherché au niveau du cytoplasme les modifications infrastructurales qui les accompagnent.

La différenciation des sporocytes se manifeste par une sphérulisation progressive d'éléments cellulaires dont le contour est d'abord irrégulier. Le cytoplasme des sporocytes globuleux se distribue en 4 lobes alors que le noyau demeure central. Il semble que la genèse de ces lobes soit en liaison avec la localisation, au niveau de 4 régions cytoplasmiques du sporocyte globuleux, de dilatations du reticulum donnant naissance à des vacuoles. Celles-ci fusionnent au cours de leur expansion, de sorte que la région axiale de chaque lobe en formation est finalement occupée par un petit nombre d'éléments de volume important (Sch. 3).

Par la suite, la croissance des lobes s'accompagne d'une synthèse considérable de cytoplasme ainsi que d'un remaniement du vacuome, dont les éléments conservent la même localisation dans chaque lobe, mais se fragmentent en enclaves étroitement imbriquées. Au cours de cette phase, l'augmentation du volume vacuolaire résulte de la différenciation de nouvelles enclaves, qui subsistent côte à côte sans fusionner. Le contenu vacuolaire, primitivement clair, devient floconneux ; dans les stades les plus évolués, il précipite sous l'action du fixateur en masses granuleuses osmiophiles.

1°)- Le plastidome : son évolution se caractérise par une augmentation considérable du nombre et du volume des plastes, par une progression de leur lamellisation et par l'importance de la synthèse amylacée.

a)- Le nombre des plastes croît de 20 à 30 (dans les cellules en voie de différenciation) à plus d'un millier (dans les sporocytes évolués préméiotiques). Les plastes mesurent 3 µ de longueur dans les éléments en voie de différenciation et 5 µ dans les sporocytes évolués.

b)- La lamellisation des plastes progresse considérablement. Les groupes de quelques lamelles présents dans les plastes de cellules en cours de différenciation (fig. 1, pl. 9) sont remplacés au cours de l'évolution par des associations de plus en plus complexes de saccules (pl. 10), comparables aux faisceaux de lamelles décrits dans les plastes de diverses Phéophycées (Fucus, Laminaria - S. JÖNSSON,1963).

c)- Les plastes des cellules en voie de différenciation sont amylifères (fig. 1, pl. 9) ; ceux de sporocytes légèrement lobés ne le sont pas tous (fig. 1, pl. 10). C'est donc que les plastes qui se bipartissent activement ne constituent pas de réserves amylacées. La suite de l'évolution se caractérise par une amylogenèse très active (fig. 2, pl. 10).

d)- Enfin, il faut signaler que les plastes des sporocytes globuleux (fig. 2, pl. 9) contiennent des vésicules claires localisées au voisinage des lamelles ainsi que des granules opaques d'une taille identique à celle des ribosomes cytoplasmiques. Par ailleurs, le stroma plastidial apparaît, à tous les stades, granuleux et dépourvu de plastoglobules.

Schéma 3 - Jeune sporocyte de Pellia epiphylla.
G = × 7.500 environ.

Schéma interprétatif réalisé d'après électromicrographie. Remarquer la localisation du vacuome dans la région axiale de chaque lobe et la forme de certaines vacuoles résultant manifestement de la fusion de plusieurs éléments de taille inférieure.

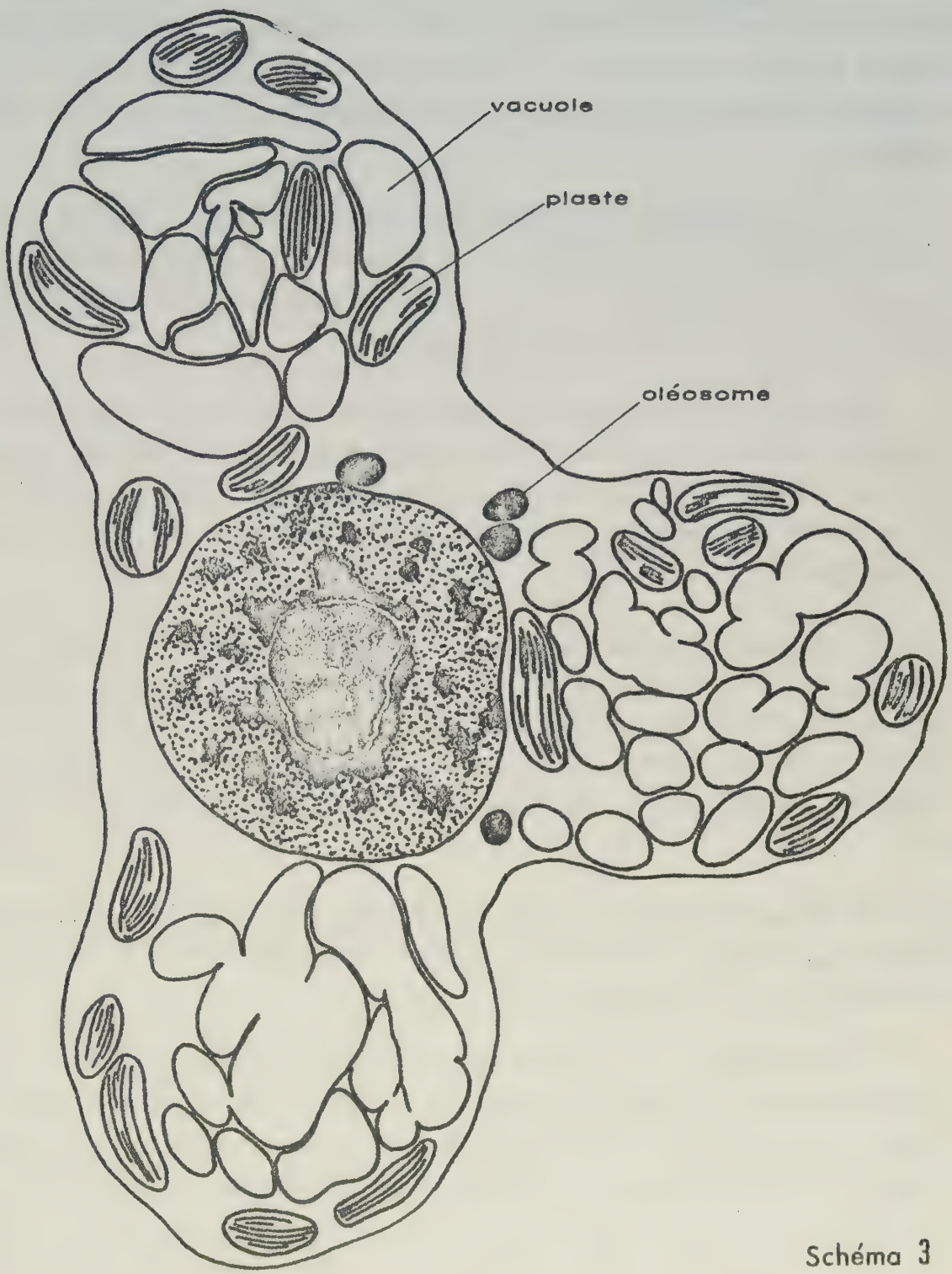


Schéma 3

2°)- Le chondriome : jusqu'à la méiose, il demeure constitué de mitochondries d'environ 1 µ de diamètre, en majorité sphériques ou peu allongées, de forme plus irrégulière dans les cellules préméiotiques. La matrice demeure claire et les crêtes courtes.

3°)- Le reticulum endoplasmique est représenté durant toute l'évolution de la cellule par un réseau de travées localement tapissées de ribosomes et par des vésicules, particulièrement nombreuses au voisinage du plasmalemme.

Dans les jeunes stades, des dilatations appartenant au reticulum endoplasmique sont manifestement à l'origine de vacuoles (pl. 8 et fig. 1, pl. 9) ; dans les stades âgés, il n'a pas été observé de rapport entre les vacuoles et le reticulum endoplasmique.

4°)- L'appareil de Golgi est particulièrement développé durant la différenciation des sporocytes et la formation des lobes ; les vésicules émises ont un nucleus sombre, dont l'importance relative décroît à mesure que le volume cellulaire augmente. Finalement, les vésicules golgiennes deviennent claires.

5°)- Les ribosomes et les oléosomes : de nombreux ribosomes et des cléosomes sont présents dans les sporocytes à tous les stades de leur évolution.

6°)- La paroi : les sporocytes différenciés sont des cellules dépourvues de paroi propre et baignent dans un gel anhyste (fig. 1, pl. 10). C'est au cours des transformations qui aboutissent à la cellule-mère tétralobée qu'une paroi s'édifie ; sa texture est d'abord très lâche, puis elle apparaît dense et fibrillaire dans les cellules préméiotiques. Durant son épaississement, les vésicules détachées des dictyosomes ou du reticulum

endoplasmique sont particulièrement abondantes et concourent à son édification.

Les structures que nous avons décrites dans les sporocytes ne subissent aucune modification importante jusqu'au début de la prophase méiotique, au cours de laquelle la vacuolisation s'accentue. La méiose se déroule durant une phase d'hydratation maximale caractérisée par une fragilité telle que la fixation en est rendue aléatoire. Ce sont ces raisons qui nous ont fait écarter momentanément de cet exposé les résultats insuffisants obtenus sur cette phase évolutive.

V - L'évolution des spores :

Après la méiose, quatre parois isolent progressivement quatre spores qui se cloisonnent à l'intérieur de la capsule et sont donc libérées à l'état pluricellulaire. Pendant la période de maturation, la paroi sporale s'édifie ; son ornementation apparaît définitivement élaborée dans les éléments à 4 ou 5 cellules. Quant à la constitution du cytoplasme, elle est identique quel que soit le nombre des cellules par spore.

1°)- La paroi sporale :

La formation de la paroi du sporocyte et celle de la spore de Riccardia pinguis ont été étudiées en microscopie électronique par H.T. HORNER, N.R. LERSTEN et C.C. BOWEN (1966). Les conclusions de cette étude ont été retenues pour interpréter la constitution des parois sporales de Pellia et la terminologie de ces auteurs a été adoptée.

La paroi est constituée de deux couches ; elle porte son ornementation définitive lorsque la spore comporte plus de quatre ou cinq cellules (fig. 3, pl. 15).

A - L'intine : couche la plus interne, de 0,5 à 0,8 µ d'épaisseur. Elle est constituée de fibrilles qui sont orientées parallèlement à la surface de la cellule dans la partie basale, en éventail et plus désordonnées dans le reste de la couche. Les fibrilles qui surmontent la membrane plasmique sont souvent plus serrées, d'où l'apparence fréquente de deux couches mal délimitées.

B - L'exine montre une dualité de structures.

a)- la nexine, sous-couche la plus interne (0,2 à 0,6 µ d'épaisseur), est constituée par la superposition de deux ou trois lames onduleuses séparées par des espaces granuleux. L'espace interlaminaire inférieur est plus dense que le supérieur. La limite entre intine et nexine est matérialisée par une ligne sombre ; les autres lames sont tripartites : deux couches sombres de 100 à 200 A° d'épaisseur ménagent entre elles un espace clair d'environ 100 A°.

b)- la sexine, sous-couche externe ornementée, est constituée de piliers en saillie qui résultent de l'érection de plissements de la lame superficielle de la nexine. Ces apophyses mamelonnées ont un sommet d'un diamètre supérieur à celui de la base.

2°)- Les cloisons internes :

Le cloisonnement de la spore et la formation d'un massif cellulaire débutent après l'individualisation des tétraspores. La première division nucléaire ne s'amorce que lorsque la paroi propre de la spore présente une différenciation en intine et exine sur la totalité de sa surface. Les cloisons internes résultent de l'évolution de plaques cellulaires dont l'épaississement est peu conséquent ; si la lamelle moyenne est toujours reconnaissable, il semble que la paroi primaire demeure mince.

3°)- Le reticulum endoplasmique :

De part et d'autre des plaques cellulaires, puis secondairement des cloisons intercellulaires, des canalicules du reticulum endoplasmique subsistent en permanence et présentent en certains points des relations de continuité avec le plasmalemme (fig. 1, pl. 15).

L'un des caractères essentiels du cytoplasme des spores de Pellia au cours de leur maturation dans la capsule tient à la présence, au voisinage de la paroi sporale ainsi qu'à proximité des cloisons internes, de multiples saccules de reticulum organisé. Au voisinage de ces parois, ainsi que le montrent la pl. 14 et les fig. 1 et 2, pl. 15, des nappes pluristratifiées de grande surface sont constituées de saccules superposés ; sur des coupes frontales, ces nappes se présentent à la manière de calottes dont la concavité est orientée vers la paroi et dont la périphérie est au contact du plasmalemme (Sch.4) De part et d'autre d'une paroi interne, deux nappes peuvent se faire face (voir pl. 14). Chacune d'elles est constituée de 3 à 20 saccules parallèles, légèrement ondulés et souvent interrompus au niveau de pores. Ces saccules sont élargis et certaines de leurs digitations périphériques sont en continuité avec le plasmalemme. Sous la paroi sporale, de tels abouchements sont exceptionnels ; à leur niveau, le contenu du saccule apparaît dense et granuleux.

Les nappes pluristratifiées de reticulum peuvent porter des ribosomes (fig. 2, pl. 15 par exemple), principalement sur le feuillet dorsal des couches les plus externes. Il n'y a pas lieu toutefois de reconnaître dans ces formations un "ergastoplasme organisé". Dans le hyaloplasme retenu dans la concavité de la calotte, subsistent des ribosomes, des dictyosomes et des vésicules golgiennes ainsi que des vacuoles.

Schéma 4 - Spore de Pellia epiphylla. Reconstitution schématique des différenciations du reticulum au voisinage d'une cloison interne. Sur la partie droite du schéma, une nappe pluristratifiée se présente sous forme de calottes emboîtées ; les calottes inférieures, percées de pores, sont localement en continuité avec le plasmalemme et les canalicules du réseau, dont certains éléments fusionnent avec la membrane plasmique au niveau de plasmodesmes. Sur la partie gauche du schéma, réseau de canalicules et travée de reticulum parallèle à la cloison.

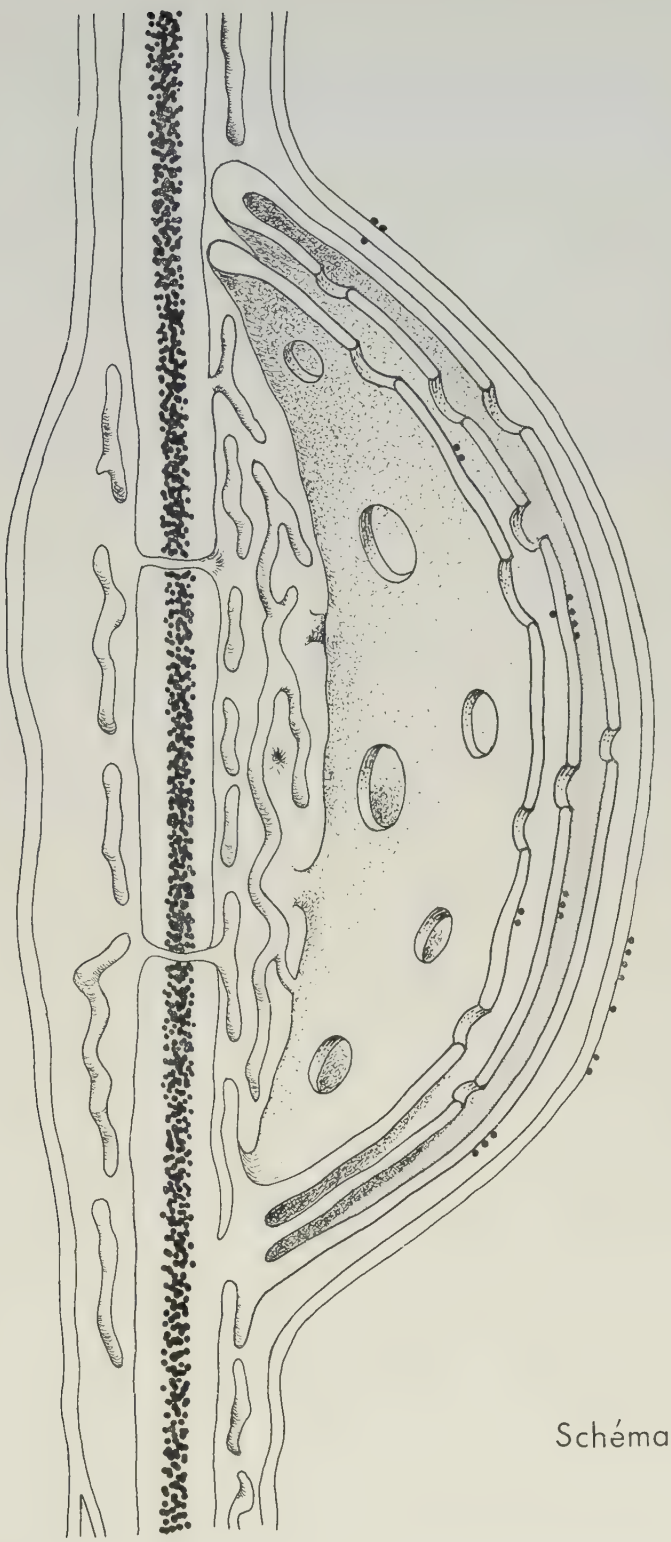


Schéma 4

La constitution remarquable des nappes pluristratifiées de reticulum endoplasmique dans les cellules sporales nous amène à attirer l'attention sur la genèse et le rôle de ces formations dans ces cellules.

a)- L'examen d'un grand nombre d'électromicrographies montre qu'à partir d'une plage de reticulum, parallèle à une plaque cellulaire ou à une jeune paroi, de nombreux saccules s'édifient par dédoublement et demeurent en continuité. Les saccules externes sont vraisemblablement à l'origine de ce dédoublement, qui ne s'effectue qu'en direction de la paroi cellulaire ; les saccules internes restent en continuité avec le plasmalemme au niveau des digitations et conservent des anastomoses à leur périphérie (Sch. 4).

b)- L'agencement des saccules prouve que le reticulum est "organisé" au niveau de ces plages. Selon nous, il joue sous cette forme un rôle essentiel dans l'édification des cloisons internes et de la paroi sporale. Les saccules les plus externes demeurent en relation avec les éléments du reticulum endoplasmique non organisé du reste de la cellule. Il y a tout lieu de supposer que le reticulum organisé joue un rôle prééminent quant à la formation de la paroi primaire, alors que les dictyosomes sont surtout actifs en tout début d'évolution, pendant l'édification de la lamelle moyenne.

c)- Le rôle dévolu au reticulum organisé durant l'édification des cloisons internes est confirmé lorsqu'en fin d'évolution les nappes de saccules perdent leurs relations avec le plasmalemme et s'écartent des parois. Leur dissociation dans le cytoplasme coïncide avec l'achèvement de leurs fonctions vis-à-vis de l'édification des parois.

5°)- L'appareil de Golgi :

Dans la spore, les dictyosomes restent peu abondants eu égard à leur nombre dans les cellules en voie de différencia-

tion ; les sporocytes évolués et plus particulièrement les cellules sporales, contiennent deux types de dictyosomes. Ceux qui donnent naissance à des vésicules claires sont en général peu actifs ; chez certains d'entre eux, les saccules s'élargissent et deviennent indépendants dans le hyaloplasme (ce phénomène est identique à celui observé au cours de la sporogénèse des Mousses - observation inédite) ; cette dissociation s'accompagne d'une diminution (ou peut-être d'un arrêt) des productions vésiculaires. D'autres dictyosomes sont constitués de 4 à 7 saccules de largeur réduite (0,3 à 0,5 µ) et émettent de très nombreuses vésicules sombres (pl. 12) ; leur présence dans la spore semble liée à l'édification des couches pariétales denses aux électrons, de la même façon qu'elle paraît en relation avec la formation des épaississements spiralés chez les élatères (voir III de ce chapitre).

5°)- Corps multivésiculaires et lomasomes :

La présence peu fréquente de corps contenant des vésicules sombres a été remarquée au voisinage de dictyosomes émettant des vésicules à contenu dense aux électrons (pl. 12). D'autre part, des décollements localisés de la membrane plasmique ont été fréquemment observés sous la paroi sporale et à la jonction des cloisons internes et de la paroi sporale ; ces formations, que nous homologuons aux lomasomes, contiennent des vésicules sombres. Nous avons déjà émis l'hypothèse (voir III de ce chapitre) que les vésicules des corps multivésiculaires et celles des lomasomes ont une origine golgienne et apportent les matériaux utilisés pour l'édification de la paroi sporale. Notre hypothèse concorde avec les idées de H.T. HORNER et coll. (1966) qui ont observé chez Riccardia pinguis la fusion des vésicules golgiennes au niveau de la membrane plasmique, sous la paroi dorsale de tétrades immatures. Il est à noter que la présence de lomasomes n'a pas été observée

sous les cloisons internes, dont le matériel dense aux électrons est réduit.

6°)- Le plastidome :

Les inclusions amylacées ont une taille maximale dans les plastes de la spore (fig. 3, pl. 13). Dans les conditions normales, la lamellisation du plaste n'atteint pas une organisation granaire ; elle consiste en longs saccules orientés suivant le grand axe du plaste et groupés en faisceaux ; ce type d'organisation est comparable à celui du plaste de certaines Phéophycées (par ailleurs dépourvu d'amidon).

Lorsque la déhiscence de la capsule a été retardée par séjour à l'obscurité en milieu humide, il se produit au niveau des plastes une amylolyse et un dédoublement des membranes de certains saccules (fig. 1, pl. 13) ; il y a ainsi apparition d'un début de structure granaire et la lamellisation du plaste se rapproche de celle connue chez les Végétaux supérieurs.

---oOo---

C H A P I T R E III

OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE CHEZ RADULA COMPLANATA

---oOo---

L'étude des phénomènes de sporogénèse chez Radula à l'aide de la microscopie électronique est plus limitée que la précédente ; l'exposé suivant est essentiellement une étude comparative de nos résultats avec ceux obtenus chez Pellia. Les difficultés techniques, et notamment la pénétration des résines d'inclusion dans le matériel ainsi que l'abondance des oléosomes, ont réduit le nombre d'électromicrographies interprétables.

I - La différenciation des deux lignées cellulaires :

Au cours de la différenciation des deux lignées cellulaires au sein du sac sporogène, les cellules s'isolent de façon plus progressive que chez Pellia. Ce fait tient à la constitution des cellules indifférenciées de Radula qui sont moins largement vacuolisées que celles de Pellia ; l'extrusion d'une importante fraction du contenu vacuolaire dans le gel intercellulaire entraîne donc une réduction moins conséquente du volume cellulaire.

II - L'évolution des sporocytes :

Les sporocytes de Radula ont une taille inférieure à ceux de Pellia et le nombre des plastes y est plus réduit. Contrairement à Pellia, il n'y a chez Radula aucune synthèse d'amidon. Ceci est probablement en rapport avec le métabolisme cellulaire, principalement orienté vers une importante lipidogénèse, attestée par le grand nombre d'oléosomes intracytoplasmiques. Nous avons pu suivre les stades essentiels de l'évolution plastidiale au cours de la sporogénèse : dans les plastes des cellules archésporiales, le stroma est abondant et les systèmes lamellaires peu développés (fig. 1, pl. 16). L'intense multiplication des saccules intraplastidiaux aboutit dès la phase préméiotique, à des empilements considérables de lamelles qui occupent la presque totalité des plastes du sporocyte (fig. 2, pl. 16); le stroma en est d'autant plus réduit et apparaît sous forme d'une substance matritielle finement granuleuse. Les empilements de saccules intraplastidiaux confèrent aux plastes de la spore une structure dans laquelle il n'est pas possible de reconnaître la structure granaire ; la lamellisation est comparable à celle que l'on connaît dans les chromatophores de diverses espèces d'Algues (Vaucheria par exemple - S. JÓNSSON, 1963).

Au sein d'un hyaloplasme réduit, les vésicules golgiennes apparaissent entièrement claires ou bien présentent une région centrale dense.

Le noyau préméiotique acquiert une forme étoilée par déformation en quatre lobes massifs. Cette morphologie tétralobée est à l'origine de l'hypothèse ancienne de J.B. FARMER (1895 à 1913) qui y voit un "fuseau à 4 pôles" ; B.M. DAVIS (1901) nie l'existence de ce fuseau et considère que le noyau se déforme sous l'influence des fibrilles d'un cytoplasme spécial, le "kinoplasme". Nos observations sur Radula complanata

n'ont pas permis de mettre en évidence de système microtubulaire dans le cytoplasme des sporocytes à noyau étoilé.

III - La spore :

Les spores demeurent unicellulaires chez Radula. Aucune formation de nappes pluristratifiées de reticulum organisé n'a été observée chez cette espèce ; ce fait est sans doute à rapprocher de l'absence de cloisonnement dans les spores de Radula contenues dans une capsule, à l'inverse de celles de Pellia.

Dans la paroi sporale, d'une épaisseur de 1,2 à 1,4 u (fig. 4, pl. 15), l'intine est une couche de 0,3 u environ d'épaisseur, constituée de fibrilles parallèles à la surface cellulaire. L'exine est formée par des piliers coniques noyés dans une masse fibrillaire d'aspect feuilleté. Les piliers sont parcourus par des lames tripartites d'une épaisseur totale de 100 A° environ et leurs bases reposent sur l'intine.

IV - L'évolution des élatères :

Lorsque les sporocytes sont tétralobés, les élatères sont cylindriques et la constitution cytologique des deux types de cellules est voisine. La paroi des élatères (de 0,3 à 0,4 u d'épaisseur) est constituée de fibrilles orientées parallèlement à la surface cellulaire. La double spirale d'épaississements apparaît plus tardivement que chez Pellia, lorsque la capsule contient des tétraspores à paroi ornementée. Deux dépressions à la périphérie de l'élatère (pl. 17) sont les seuls indices de l'accumulation de substances membranaires au cours de l'ontogénèse des épaississements spiralés. Durant cette évolution, de nombreuses vésicules denses se détachent des dic-

tyosomes et se dispersent dans le cytoplasme ; comme chez Pellia, le reticulum endoplasmique se dispose en manchons concentriques à la périphérie de la cellule et ces travées sont localement dilatées en vésicules qui peuvent s'isoler puis s'accoler au plasmalemme. Il semble donc que le reticulum endoplasmique joue aussi chez Radula un rôle important dans l'élaboration des constituants de la paroi de l'élatère et de ses épaississements spiralés.

---oOo---

C H A P I T R E IV

SYNTHESE ET DISCUSSION

---oOo---

Les recherches sur la sporogénèse dont nous venons d'exposer les résultats, nous suggèrent les considérations suivantes :

1°)- La constitution du sac sporogène :

Les cellules du proembryon ont des caractères éminemment méristématiques. Des cloisonnements périclines déterminent dans la partie apicale de l'embryon une enveloppe cellulaire et un sac sporogène. Trois phases successives ont été reconnues avant la différenciation des deux lignées cellulaires du sac sporogène :

a)- Une première phase d'auxesis durant laquelle le volume des cellules du proembryon s'accroît.

b)- Une phase de mérésis durant laquelle les cloisonnements cellulaires se succèdent avec pour conséquence une régression de la taille des cellules. Désormais, la capsule possède un nombre invariable d'éléments cellulaires.

c)- Une nouvelle phase d'auxesis, caractérisée surtout par l'accroissement du volume vacuolaire, précède immé-

diatement la différenciation des sporocytes et des jeunes élatères.

2°)- La différenciation des deux lignées cellulaires : sporocytes et élatères :

Dans les deux cas, nous avons souligné l'importance dévolue à l'appareil vacuolaire. Nous pensons en effet que l'extrusion d'une grande partie du contenu vacuolaire des cellules encore indifférenciées est à l'origine de la gélification des parois primaires. Les cellules sont désormais isolées à l'intérieur d'un gel et dépourvues de parois propres.

3°)-L'évolution des sporocytes :

a)- La vacuolisation du cytoplasme de certaines cellules en quatre régions privilégiées est à l'origine des 4 mammelons des sporocytes.

Ces faits sont particulièrement nets chez Pellia epiphylla où, selon toute vraisemblance, les vacuoles de ces régions tirent leur origine de dilatations localisées du reticulum, qui fusionnent dans une première phase. Par la suite, des vacuoles de volume réduit coexistent côte à côte dans la région axiale des sporocytes chez Pellia ou Radula. L'acquisition d'une forme tétralobée ne résulte pas de phénomènes nucléaires ; les facteurs qui conduisent à cette morphologie résident au contraire dans le cytoplasme. Ces résultats sont à rapprocher de faits qui sont connus chez les Mousses au cours de l'évolution des sporocytes préméiotiques : l'unique plaste foliacé présent dans le cytoplasme se divise en 4 éléments en forme de calotte, qui se disposent aux 4 sommets d'un tétraèdre régulier bien avant le déclenchement de la prophase méiotique ; la cellule demeure globuleuse et le cytoplasme se trouvant dans la concavité du plaste ne se vacuolise pas particulièrement.

b)- Au cours de l'évolution des sporocytes, il y a accroissement du volume cytoplasmique et augmentation du nombre des plastes. La formation d'une paroi propre débute bien avant la méiose.

4°)- L'évolution des élatères :

Les élatères acquièrent progressivement une forme cylindrique de plus en plus allongée ; leur paroi s'édifie en même temps que celle des sporocytes. L'acquisition d'épaississements spiralés est plus précoce chez Pellia que chez Radula. En fin d'évolution, les élatères sont très largement vacuolisés et leur noyau demeure situé dans une région moyenne.

5°)- Les spores :

Les spores individualisées après la méiose demeurent unicellulaires chez Radula et deviennent pluricellulaires chez Pellia. La paroi est déjà bistratifiée avant la méiose, mais l'ornementation de l'exine ne s'achève qu'après l'individualisation des tétraspores.

6°)- Le plastidome :

Les plastes de Pellia comme ceux de Radula ne présentent pas une véritable structure granaire ; les systèmes lamellaires ont donc une organisation moins évoluée que celle des plastes de Mousses, qui conservent une structure granaire durant toutes les phases de la sporogénèse (J. EYMÉ et C. SUIRE, 1969) ; ils sont ici comparables à ce qui est connu dans les plastes de diverses Algues, par ailleurs dépourvues d'amidon, comme Radula. Chez Pellia au contraire, une synthèse d'amidon est possible à tous les niveaux du cycle végétatif ; elle est particulièrement importante dans les sporocytes et les spores. Le maintien des plantes à l'obscurité provoque une amylolyse

et l'organisation d'un début de structure granaire ; dans ces conditions, la lamellisation de ces plastes est plus proche de celle connue chez les Végétaux supérieurs.

7°)- Le chondriome :

Les éléments de cette formation conservent une taille réduite au cours de la sporogénèse.

8°)- Le reticulum endoplasmique :

Au cours de la différenciation des élatères, des travées de reticulum en forme de manchons se disposent parallèlement à la paroi et participent à son édification.

Dans les spores de Pellia, certaines travées s'organisent en nappes pluristratifiées, uniquement localisées au voisinage des cloisons internes et de la paroi sporale : leur organisation est donc polarisée par les formations membranaires. Cette disposition est temporaire ; elle ne se reconnaît plus lorsque les cloisons ont acquis leur épaisseur définitive.

9°)- L'appareil de Golgi :

Les dictyosomes deviennent abondants au début de la formation des lobes chez les sporocytes et durant l'édification des parois de la spore et de l'élatère. Aux phases d'activité maximale, certains de ces dictyosomes émettent des vésicules à contenu dense aux électrons, d'autres des vésicules claires. La production de vésicules sombres semble être en rapport avec l'édification de structures pariétales denses aux électrons (paroi sporale, épaississement spiralé de l'élatère et peut-être lamelle moyenne des parois cellulaires). Dans la spore de Pellia, il coexiste des dictyosomes très actifs et des formes de dissociations reconnaissables à l'accroissement du diamètre des saccules constitutifs.

Des corps multivésiculaires représentent vraisemblablement une forme de transport de groupes de vésicules golgiennes sombres jusqu'à la paroi sporale ou l'épaississement de l'élatère : leur fusion avec le plasmalemme donne naissance à des lomasomes.

10°)- Le cytoplasme :

La raréfaction des ribosomes accompagne l'évolution terminale des élatères. L'abondance des oléosomes est caractéristique des sporocytes et des spores de Radula ; le métabolisme de cette espèce est distinct de celui de Pellia, dont les plastes élaborent de l'amidon.

*

* *

Q U A T R I E M E P A R T I E

LA SPERMATOGENESE

---oOo---

INTRODUCTION

I - Principaux travaux effectués en microscopie photonique sur la spermatogénèse des Hépatiques :

Un certain nombre d'Hépatiques ont fait l'objet de travaux particulièrement importants et développés.

Marchantiales :

- Blasia pusilla W.L. WOODBURN (1913)
  L.W. SHARP (1920)
- Bucegia romanica Mlle E. PANCA (1933)
- Fegatella conica W.L. WOODBURN (1911)
- Lunularia cruciata G. CHALAUD (1931)
- Marchantia polymorpha S. IKENO (1903-1905)
  Y. ESCOYEZ (1907)
  J.H. SCHAFFNER (1908)
  P. GAVAUDAN (1930)
- Reboulia hemisphaerica W.L. WOODBURN (1922)

Metzgériales :

- Fossombronia pusilla G. CHALAUD (1929)
- Makinos crispata H. YAZAWA (1931)
- Pellia epiphylla M. WILSON (1911)
- Sphaerocarpus donnellii Mlle B.I. NEVINS (1932)

Jungermanniales :

- Plagiochila adiantoides D.S. JOHNSON (1929)
- Porella W.L. WOODBURN (1911)

II - Travaux effectués en microscopie électronique sur la spermatogénèse des Bryophytes :

Les techniques permettant d'observer des coupes ultrafines de tissus ont commencé à être mises au point il y a une quinzaine d'années et ont été d'abord appliquées à du matériel d'origine animale. Les premiers travaux sur la spermatogénèse des Bryophytes rendent compte de l'observation de montages in toto de spermatozoïdes. Cette technique ne permet d'étudier que la forme des organites qui persistent ; beaucoup moins fine que les techniques aboutissant à l'observation de coupes, elles ont tout de même permis aux premiers chercheurs de mettre en évidence certains systèmes fibrillaires des spermatozoïdes de divers Bryophytes.

S. SATÔ étudie en 1951 le spermatozoïde de Marchantia polymorpha, puis en 1954 celui de Conocephalum conicum. Il met en évidence un "filamentous appendage" qui prolonge le blépharoplaste et se résoud, sous l'action de l'eau chaude ou des ultrasons, en 9 ou 10 fibrilles de 200 A° chacune. En 1956, le même auteur retrouve une formation similaire dans les spermatozoïdes de six autres Hépatiques et de deux Anthocérotes.

A la même époque, J. EYMÉ et L. CAPOT (1954) observent des spermatozoïdes de Sphagnum cymbifolium et étudient l'insertion des flagelles sur le corps apical.

Miss I. MANTON (1957) applique, pour la première fois chez les Bryophytes, la technique des coupes ultrafines à l'étude ultrastructurale de la paroi anthéridiale et du spermatozoïde d'un Sphagnum. Dans certaines cellules pariétales, des faisseaux de microtubules existent dans le cytoplasme de la face interne ; chez le spermatozoïde, l'auteur s'attache surtout à décrire un système de microtubules, la "fibrous band".

E. HEITZ met en évidence dans les spermatides de 4 Hépatiques (1959) puis de 2 Mousses (1960) une structure tristratifiée ("Dreiergruppe") qui repose sur une formation vacuolisée à double membrane présentant des analogies avec la structure mitochondriale.

S. SATÔ (1962) étudie la spermatide de Conocephalum conicum. La cellule ne contient qu'une seule mitochondrie localisée sous les bases flagellaires, au voisinage d'un dictyosome atypique ; le plaste est en position basale ; le noyau montre de nombreuses fibrilles, qui sont considérées comme les fibrilles élémentaires des chromosomes.

C.N. SUN (1963) décrit quelques aspects de l'infrastructure des spermatides âgées de deux Mousses ; il ne reconnaît pas la nature double du corps basal et l'assimile à un plaste modifié.

A partir de 1965, les recherches se succèdent à un rythme rapide.

D.J. PAOLILLO (1965) s'attache particulièrement à l'étude de la plaquette stratifiée et de la languette de deux Polytrics. Le même auteur publie en collaboration avec G.L. KREITNER et Mlle J.A. REIGHARD (1968 a et b) une importante étude de l'évolution de la spermatide et du spermatozoïde de Polytrichum juniperinum ; ces auteurs donnent des renseignements très précis sur la constitution et l'évolution du complexe apical et montrent que la totalité des mitochondries de la spermatide fusionnent en un "Nebenkern", qui se scinde ensuite en deux éléments. Enfin, D.J. PAOLILLO (1967) met en évidence une structure hélicoïdale dans le flagelle du spermatozoïde de Polytrichum juniperinum.

L. GENEVES publie à partir de 1967 les résultats de recherches sur certains aspects de la spermatogénèse chez Po-

lytrichum formosum ; il met en évidence plus particulièrement la raréfaction des ribosomes cytoplasmiques au cours de la spermiogénèse, la nature double du corps basal ainsi que les modalités de l'édification de la plaquette stratifiée au voisinage de deux cinétosomes et du noyau.

E.J. BONNOT (1967 a) fait part d'observations sur les stades précédant la différenciation des spermatides de Pogonatum aloides et plus spécialement sur la formation du plaste foliacé ou limoplaste. Le même chercheur (1967 b) montre dans la jeune spermatide de Bryum capillare que l'une des deux extrémités du "Nebenkern" est appliquée contre la face inférieure du complexe fibrillaire et l'autre contre le plaste ; la membrane nucléaire s'efface au cours de l'évolution de la cellule.

Chez les Hépatiques, les recherches sont moins nombreuses. L. DIERS (1967) met en évidence l'absence de nucléoplasme et de paroi nucléaire dans le noyau du spermatozoïde de Sphaerocarpos donnellii, la fasciculisation des fibrilles chromatiniennes, ainsi que la présence d'une gaine périnucléaire contenant des microtubules. Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER (1967-1968) font connaître, avec une remarquable précision, les détails de l'ultrastructure de la plaquette stratifiée et des cinétosomes de la spermatide de Marchantia polymorpha.

Les recherches dont nous venons de donner une analyse sommaire, sont largement évoquées au cours des discussions qui suivent l'exposé des résultats obtenus chez Pellia.

---oOo---

OBSERVATIONS EFFECTUEES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'ANTHERIDIE ET LA SPERMATOGENESE CHEZ PELLIA EPIPHYLLA

1°)- Une cellule superficielle de la région dorsale du thalle, située trois ou quatre couches cellulaires à l'arrière de la cellule initiale apicale, s'érige en papille et se divise ; ses premiers cloisonnements isolent trois types de cellules qui sont à l'origine des trois régions de l'anthéridie.

a)- Les cellules inférieures donnent naissance à un empilement de trois ou quatre couches constituant le pédicelle de l'anthéridie. Les cellules de la base du pédicelle sont en continuité avec les cellules du thalle.

b)- Les cellules supérieures subissent des cloisonnements périclinaux qui différencient une couche de cellules périphériques ; celles-ci sont à l'origine de la paroi de l'anthéridie qui, au cours de l'évolution ultérieure, ne subit que des cloisonnements anticlines et demeure ainsi monostrate.

c)- Les cellules du massif interne de l'anthéridie se cloisonnent dans toutes les directions et sont à l'origine du tissu spermatogène.

2°)- Un gel se forme dans la cavité délimitée par les cellules du thalle, en même temps que celles-ci s'écartent pro-

gressivement de l'anthéridie ; le plafond de la cavité, constitué de 2 ou 3 assises cellulaires, fait saillie à la surface du thalle et se rompt lorsque l'anthéridie est mûre.

3°)- Les cellules pariétales et celles du pédicelle atteignent une plus grande taille que les cellules spermatogènes et se différencient d'une manière identique aux cellules du thalle : les chloroplastes demeurent nombreux et deviennent amylifères ; le vacuome atteint un développement considérable et la turgescence cellulaire est élevée ; les parois s'épaississent, tandis que des oléocorps se différencient dans ces tissus chez des anthéridies évoluées. Les parois radiales des cellules pariétales sont souvent sinueuses. Il ne semble pas que cette conformation soit la conséquence des traitements subis ; peut-être a-t-elle un rôle dans la déhiscence de l'anthéridie.

4°)- Les cellules spermatogènes, ou "spermatogonies", se multiplient activement, deviennent des "spermatocytes", puis des "spermatides", qui se transforment progressivement en "spermatozoïdes". Les suffixes "cyte", "tide" et "zoïde" ont été employés en Biologie végétale par de nombreux auteurs, associés aux préfixes "andro", "anthéro" ou "spermato". Nous avons choisi le préfixe "spermato" afin de nous conformer à un usage quasi général dans les recherches ultrastructurales chez les Archégoniates et nous désignons par "spermatogonie", "spermatocyte", "spermatide" et "spermatozoïde" quatre étapes successives du développement ontogénique du tissu spermatogène. Ces quatre termes sont habituellement employés en Biologie animale pour désigner des phases de la spermatogénèse qui n'ont pas d'équivalent chez les Bryophytes, où le tissu spermatogène demeure haploïde durant toute son évolution.

5°)- Le tissu spermatogène d'une jeune anthéridie est un massif méristématique constitué de cellules polyédriques toutes semblables, les spermatogonies. Ces cellules ont des caractères

de méristème primaire, avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, un vacuome peu développé souvent presque invisible et des cloisons cellulaires très fines. Dans les spermatogonies à noyau interphasique, le noyau est sphérique ou légèrement ovoïde et occupe une position à peu près centrale. Il est relativement volumineux (7 µ de diamètre pour une cellule d'environ 9 × 12 µ). L'unique nucléole est massif (2 u à 2,5 µ de diamètre) ; sa structure est hétérogène. La chromatine se condense localement en nombreux chromocentres, les plus épais se trouvant en général autour du nucléaole. La mitose se déroule suivant des modalités normales ; nous y avons compté 9 chromosomes.

Les plastes sont de petite taille ; ils apparaissent très peu chlorophylliens en observation vitale et peu sidérophiles dans les tissus fixés, colorés à l'hématoxyline. Le rythme des bipartitions plastidiales étant moins rapide que celui des cloisonnements cellulaires, le nombre des plastes décroît au cours de l'évolution des cellules et se réduit à 2 chez les dernières générations de spermatogonies.

Celles-ci se cloisonnent une dernière fois et deviennent des spermatocytes. Si rien ne distingue apparamment la spermatogonie évoluée du jeune spermatocyte, la nécessité d'une terminologie propre se justifie par l'évolution de cette dernière cellule.

6°)- Alors que les spermatogonies constituent un véritable tissu, les spermatocytes deviennent progressivement ovoïdes et se séparent les uns des autres en ne conservant que quelques points de contact. Les spermatocytes séparés baignent dans un gel et dessinent dans l'anthéridie une sorte de réseau qui rappelle la disposition des cellules dans une colonie de Volvox. Le noyau occupe la région centrale de chaque cellule ; les 2 plastes sont peu visibles.

Les spermatocytes se cloisonnent une fois et donnent naissance aux spermatides. Au cours de cette mitose, il n'a pas été mis en évidence d'extrusion de matériel nucléaire dans le cytoplasme et les plastes n'ont pas été reconnus. Dans nos préparations, aucun centrosome n'est visible (voir à ce sujet l'étude en microscopie électronique), pas plus que lors des divisions des spermatogonies.

7°)- Les deux spermatides issues du même spermatocyte demeurent groupées par paires. Le noyau se déforme en émettant un bec, alors qu'apparaissent un blépharoplaste et deux flagelles : la partie effilée du noyau marque la région antérieure de la cellule. Les flagelles s'allongent en direction postérieure à la périphérie de la spermatide, en suivant sa paroi externe. Le noyau s'étire et acquiert un contour hélicoïdal. Les déformations des deux spermatides d'une paire sont symétriques par rapport à la paroi interne ; le sens des hélices des deux noyaux est inverse : si l'une est dextre, l'autre est sénestre.

Le noyau perd toute structure dans les régions amincies et se réduit à un filament homogène Feulgen positif, fortement sidérophile. Le volume du cytoplasme diminue au cours des dernières phases de l'élongation nucléaire et ses constituants sont difficilement identifiables ; ils se groupent en une vésicule qui glisse le long du noyau jusqu'à son extrémité postérieure.

8°)- Le spermatozoïde est l'aboutissement final de cette évolution complexe. Le noyau est un filament qui décrit une hélice d'environ deux tours et demi ; sa partie antérieure est difficilement distincte du blépharoplaste, sur lequel s'insèrent deux longs flagelles ; sa partie postérieure supporte du côté interne la vésicule cytoplasmique, pratiquement réduite au "corps basal", dont la nature a été précisée en microscopie

électronique. Le noyau du spermatozoïde mesure environ 75 µ de longueur et 0,5 µ de diamètre dans sa région médiane ; chaque flagelle mesure environ 30 µ de longueur.

Il est évident que l'étude des phases successives de cette évolution complexe relève de techniques plus raffinées ; il était toutefois nécessaire d'en préciser la chronologie au préalable.

---oOo---

OBSERVATIONS EFFECTUEES A L'AIDE DU MICROSCOPE ELECTRONIQUE

SUR LA SPERMATOGENESE DE PELLIA EPIPHYLLA

L'exposé de nos résultats est fragmenté en plusieurs parties qui se rapportent aux phases évolutives les plus caractéristiques du développement cellulaire dans le massif anthéridial. Cette méthode d'exposition permet de mettre en évidence les rapports entre les divers systèmes structuraux intracellulaires et donne une idée synthétique des modifications qui aboutissent à l'édification du gamète mâle.

---oOo---

C H A P I T R E I

LA SPERMATOGONIE

---oOo---

Le tissu spermatogène de la jeune anthéridie est constitué de cellules polyédriques toutes semblables (fig. 1, pl. 18), dont le caractère éminemment méristématique peut se déduire du fort rapport nucléo-cytoplasmique dans les cellules à noyau interphasique, de la fréquence du cloisonnement et du faible développement du reticulum endoplasmique.

L'évolution du plastidome permet de distinguer deux périodes.

I - Première phase : maintien du nombre des plastes :

La fréquence des bipartitions plastidiales est identique à celle des cloisonnements cellulaires, de sorte que se rétablit dans chaque cellule-fille un nombre de plastes égal à celui de la cellule-mère.

1°)- Le plastidome :

Lorsque l'anthéridie comporte moins d'une trentaine de cellules fertiles, chaque spermatogonie contient plusieurs chloroplastes de forme allongée et de 1 à 3 µ de diamètre.

Le stroma plastidial est clair ; il contient de petits granules denses et le plus souvent quelques globules osmiophiles de 500 à 1000 A° de diamètre. La formation d'amidon est très précoce ; certains plastes en contiennent à ce stade un ou deux petits grains souvent osmiophiles et toujours dépourvus de hile. Les thylacoïdes sont indépendants ou associés par 2 à 5 ; ils sont souvent orientés transversalement.

2°)- Le noyau interphasique :

Il occupe en général une position à peu près centrale dans la cellule.

A - Le nucléole :

Le nucléole apparaît parcouru de travées claires contournées ou de plages peu denses aux électrons ; il a une structure analogue à celle d'une éponge. A un plus fort grandissement, il se montre constitué d'une multitude de granules, certains relativement peu denses aux électrons, d'autres beaucoup plus. Les granules les plus denses ont un aspect et une taille semblables aux ribosomes du cytoplasme. Dans les plages claires, quelques bâtonnets très courts et mal délimités sont quelquefois visibles.

B - La chromatine :

La chromatine apparaît sous forme de ponctuations irrégulières dispersées dans le nucléoplasme ou rassemblées en plages de limite imprécise et de structure confuse, les chromocentres ; les chromocentres périnucléolaires sont séparés du nucléole par un espace clair d'au moins 500 A°.

C - La paroi nucléaire :

La paroi nucléaire apparaît occasionnellement en relation avec le reticulum endoplasmique. L'écartement des deux feuillets est variable. Les pores mesurent 600 A° de diamètre environ.

3°)- Le chondriome :

Dans le cytoplasme des spermatogonies, des mitochondries globuleuses de 1 u à 1,5 µ de diamètre sont en mélange avec des chondriosomes allongés d'environ 0,5 µ de calibre, la taille la plus importante observée sur micrographie étant de 2 µ. La matrice mitochondriale est claire. Les crêtes sont peu nombreuses ; la plupart sont courtes et sinueuses. Dans les chondriosomes, certaines crêtes sont plus longues et ont un trajet presque rectiligne : ce sont des cloisons, qui apparaissent complètes dans certaines coupes.

4°)- L'appareil de Golgi :

L'appareil de Golgi est bien développé ; deux ou trois dictyosomes sont visibles dans la coupe médiane de chaque cellule. Chaque dictyosome est constitué de quatre à six saccules aplatis, presque rectilignes ou peu courbés, de 0,8 à 1 µ de longueur chacun, empilés sur une hauteur de 0,2 µ environ. Les vésicules golgiennes sont abondantes ; leur diamètre est de 0,1 µ environ ; leur contenu apparaît homogène, légèrement dense aux électrons ; elles sont dispersées dans le cytoplasme pendant l'interphase.

5°)- Les ribosomes :

Les ribosomes sont nombreux, souvent groupés en petits ensembles dispersés dans tout le cytoplasme. Ils se montrent rarement accolés aux feuillets du reticulum endoplasmique.

6°)- Le reticulum endoplasmique :

Le reticulum endoplasmique est peu développé ; certains élargissements de forme irrégulière représentent des provacuoles. Comme dans les sporocytes, le vacuome est constitué de

nombreuses enclaves, souvent de taille réduite et de forme irrégulière.

7°)- Les oléosomes :

Les oléosomes, souvent de petite taille (0,2 à 0,3 µ de diamètre), sout moins abondants que dans les cellules gamétophytiques ou dans les cellules sporogènes. Ce développement relativement réduit des inclusions figurées osmiophiles est un des caractères qui se conservent tout au long de la spermatogénèse.

II - Seconde phase : réduction du nombre des plastes :

Le nombre des plastes diminue dans chaque cellule car le rythme des bipartitions plastidiales est moins rapide que celui des mitoses.

1°)- Le plastidome :

Après quelques divisions, chaque cellule ne possède plus que deux plastes très volumineux (pl. 19) qui se bipartissent durant l'interphase, de sorte que le cloisonnement suivant répartit quatre plastes entre deux cellules-filles. Le nombre minimum de plastes dont hérite chaque cellule est de deux ; les spermatogonies ne passent pas par un stade à plaste unique, ainsi que l'a observé J. EYMÉ (1953) chez diverses Mousses. Une divergence de détail sépare donc les deux sous-classes de Bryophytes : les cellules de Mousses atteignent une constitution monoplastidiée dès la spermatogonie, alors que les cellules d'Hépatiques ne l'atteignent pas avant la spermatide.

Lorsque les spermatogonies sont biplastidiées, chaque plaste a un volume bien plus considérable qu'au cours de la premiè-

re phase du développement des cellules. Certains d'entre eux mesurent en effet jusqu'à 11 µ de longueur et 2,5 µ de diamètre dans les régions les plus renflées (fig. 1, pl. 19). Leur calibre peut être plus réduit dans une région moyenne, ce que nous interprétons comme une ébauche de bipartition. Le stroma plastidial est clair ; il contient de courtes lamelles qui présentent des dilatations et des rétrécissements successifs, ainsi que de plus longues, associées de manière très lâche. Les plastoglobules sont rares ; les inclusions amylacées ont le plus souvent un diamètre inférieur au micron. Au cours de l'évolution cellulaire, le volume de chaque plaste a donc augmenté, mais le système lamellaire n'a pas évolué.

Les deux plastes se bipartissent par rupture d'un rétrécissement médian. Un peu avant son cloisonnement, chaque spermatogonie contient quatre plastes allongés ou globuleux. Après le cloisonnement, les deux plastes dont hérite chaque spermatogonie acquièrent un volume double et se bipartissent. Le processus semble se renouveler une seule fois avant la pénultième division des spermatogonies, dont les trois dernières générations sont, à notre avis, les seules biplastidiées.

L'interphase qui s'étend entre l'avant-dernier cloisonnement des spermatogonies et celui qui différencie les spermatocytes doit avoir une durée plus longue que les interphases précédentes car toutes les parois cellulaires sont parfaitement formées ; aux stades précédents, certaines parois séparant des cellules à noyau interphasique apparaissent ondulées et incomplètement formées. Durant cette interphase, la structure plastidiale se modifie ; ces transformations du plastidome en annoncent d'autres encore plus profondes qui se produisent dans les spermatocytes.

La forme des plastes dse modifie sans augmentation du volume plastidial (pl. 20 et fig. 1, pl. 21). Ce changement de

forme consiste en une élongation et une diminution du calibre, mais il n'y a pas d'aplatissement. Il va de pair avec un remaniement de la structure interne. Les thylacoïdes s'orientent suivant le plus grand axe du plaste ; ils demeurent indépendants, bien séparés les uns des autres, et ne se dédoublent pas. Le stroma devient finement granuleux. Le plaste acquiert une forme générale souvent courbe ou sinueuse.

2°)- Le chondriome :

Il ne subit pas de transformations jusqu'à l'avant-dernière génération de spermatogonies. Chez les deux dernières générations, des modifications s'effectuent suivant deux processus divergents qui ont pour résultat l'acquisition par les éléments du chondriome d'une morphologie et d'une structure différentes.

a)- Certains éléments du chondriome subissent une vésiculisation, totale ou partielle. Le diamètre de mitochondries globuleuses ou peu allongées, peut augmenter jusqu'à leur transformation en vésicules à double membrane : tout se passe comme si la substance fondamentale de la mitochondrie se dispersait dans un volume accru, de sorte que le contenu de l'élément dilaté devient transparent aux électrons. Chez les mitochondries très allongées, la vésiculisation est souvent localisée: la vésicule fait alors saillie à la surface de l'organite à la manière d'une hernie et peut atteindre un volume supérieur à celui de la partie non vésiculisée de la mitochondrie.

Le gonflement des mitochondries et la clarification de la matrice ont été observés en diverses circonstances dans des cellules animales. L'action de la thyroxine, le syndrome de la tuméfaction trouble ou un jeûne prolongé par exemple, provoquent une vésiculisation des mitochondries du foie ; des phénomènes analogues ont été signalés au début de l'évolution mitochondriale qui aboutit à la formation du "Nebenkern" chez un

Papillon (J. ANDRÉ, 1959). Le gonflement des mitochondries a été observé in vitro sous l'action d'hormones ou de produits divers. Il est dû à une hydratation du contenu mitochondrial, mais ce n'est pas un simple phénomène osmotique : il est en rapport avec l'état enzymatique des mitochondries. L'addition d'ATP au milieu protège les éléments du chondriome contre le gonflement et prouve que l'ATP joue un rôle prépondérant dans le phénomène, mais le mécanisme de son action est mal connu (renseignements tirés de P. FAVARD et N. CARASSO, 1961, p. 930-941). Par ailleurs, la consommation en oxygène de racines diminue lorsque le chondriome a été vésiculisé sous l'action d'un carbamate (in J.F. MESQUITA, 1968) : les mitochondries vésiculisées n'assurent donc plus la phosphorylation oxydative. Si cette hypothèse est fondée, le métabolisme respiratoire des deux dernières générations de spermatogonies et celui des spermatocytes de Pellia doit être sérieusement diminué puisque les mitochondries vésiculisées y représentent une fraction majoritaire de chondriome.

Par la suite, des structures multilamellaires apparaissent le plus souvent dans les vésicules et sont éliminées au cours de l'évolution des spermatocytes. Ces formations sont des altérations irréversibles identiques à celles connues dans divers tissus animaux ou végétaux. La vésiculisation apparaît donc comme un processus de dégénérescence qui aboutit à une diminution du métabolisme respiratoire de la cellule et à une élimination d'une partie du chondriome.

b)- Chez les autres éléments du chondriome, l'évolution se manifeste par la densification de leur matrice et leur étirement ou leur fusion. Le calibre de certaines mitochondries s'amenuise, les crêtes ou les tubules se dilatent et la substance matricielle se condense dans un espace reserré. Parallèlement, ces mitochondries à matrice dense s'étirent ou fusionnent, donnant naissance à des éléments allongés et souvent sinueux, quelquefois en forme de Y (fig. 2, pl. 18). Ces

éléments allongés peuvent être localement vésiculisés, mais l'opacité de la matrice se conserve dans les parties non dilatées. Ils ne sont jamais rejetés hors de la cellule, comme les mitochondries transformées en vésicules. La densification de la matrice ne doit pas être interprétée comme une dégénérescence : les mitochondries à matrice densifiée pourraient au contraire constituer la seule fraction du chondriome qui assure la respiration cellulaire.

Les phénomènes observés chez Pellia évoquent des observations analogues effectuées sur des cellules animales : par exemple, J. ANDRÉ (1962) décrit un accroissement des espaces intermembranaires et une opacification de la substance matricielle au cours de la spermatogénèse chez le Rat et la Testacelle. Par ailleurs, des cas de fusion de mitochondries ont été observés sur le vivant, dans des cellules d'origine animale provenant de cultures. De nombreux cas de fusion ont été également observés en microscopie électronique, par exemple dans les cellules du rein, après action de l'albumine dans le cas de la tuméfaction trouble et, dans des conditions normales, en particulier au cours de la gamétogénèse mâle chez divers animaux ; ces fusions aboutissent à la formation des Nebenkerns des spermatides de certains Insectes, du manchon périflagellaire qui participe à l'édification de la pièce intermédiaire du spermatozoïde de certains Mollusques ou bien des mitochondries cupuliformes des spermatocytes de Scorpion (renseignements tirés de P. FAVARD et N. CARASSO, 1961).

c)- En conclusion, les transformations du chondriome chez les deux dernières générations de spermatogonies paraissent mettre en jeu des processus inverses et aboutissent à des résultats opposés. La vésiculisation d'une fraction du chondriome pourrait être le résultat d'une hydratation de la substance matricielle et à la valeur d'une dégénérescence, les mitochondries vésiculées n'assurant pas normalement leurs fonc-

tions métaboliques (et en particulier leur rôle dans la respiration cellulaire) et étant, à plus ou moins brève échéance, rejetées hors de la cellule. Chez les autres éléments du chondriome, la densification de la matrice s'accompagne d'un étirement et d'une fusion des mitochondries ; cette fraction du chondriome persiste en totalité dans les stades ultérieurs et semble assurer, seule ou en très grande partie, les fonctions du chondriome dans le métabolisme cellulaire.

3°)- Le reticulum endoplasmique :

La comparaison avec les stades antérieurs montre que le développement du reticulum est identique mais que les feuillets tapissés de ribosomes (ergastoplasme) sont en proportion bien plus importante. Certaines travées dépourvues de ribosomes sont renflées en ampoules ; quelques-unes ont certainement la valeur de provacuoles.

4°)- Le vacuome :

Son extension diminue durant la dernière interphase : les vacuoles sont nombreuses, mais presque toutes sont de taille réduite. Le remaniement structural dont les conséquences ont été étudiées aux niveaux du plastidome et du chondriome, se manifeste aussi au niveau du vacuome ; il aboutit en quelque sorte à un renouvellement d'une grande partie du système de stockage des solutions dans la cellule et apparaît comme une phase pendant laquelle le cytoplasme est peu hydraté.

5°)- L'appareil de Golgi et les ribosomes :

Les dictyosomes sont actifs et donnent naissance à de nombreuses vésicules golgiennes. Les ribosomes sont abondants ; ceux qui ne sont pas rattachés au reticulum endoplasmique sont rassemblés en petits groupes ou associés plus étroitement en polysomes.

6°)- Présence d'un système microtubulaire intracytoplasmique :

Il existe dans le cytoplasme de cellules biplastidiées représentant l'avant-dernière ou la dernière génération de spermatogonies, un système de microtubules de 250 A° environ de diamètre chacun (fig. 2, pl. 18 et pl. 20). Les microtubules sont répartis par petits groupes, au voisinage immédiat de la membrane nucléaire, et à la périphérie de la cellule. Ils sont plus nombreux dans le cytoplasme périnucléaire, mais par contre chacun des quelques ensembles périphériques se montre constitué d'un plus grand nombre de microtubules qu'un groupe périnucléaire. Ces tubules forment des faisceaux qui convergent en deux régions opposées de la cellule, constituant probablement un fuseau dont la région médiane élargie enserre le noyau.

On peut s'interroger sur la signification de la présence de microtubules dans le cytoplasme des spermatogonies de Pellia durant la phase intermitotique. A ce sujet, nos résultats seront comparés à ceux acquis chez les cellules de divers Phanérogames, dans lesquelles le "fuseau achromatique" des anciens auteurs est en fait un système microtubulaire qui s'organise dans le cytoplasme en début de prophase. Il faut mentionner en particulier les travaux de J.D. PICKETT-HEAPS et D.H. NORTHCOTE (1966) qui ont décrit une "preprophase band" dans les cellules du complexe stomatique de l'épiderme du coléoptyle et de la feuille de Blé, ainsi que ceux de J. CRONSHAW et K. ESAU (1968) dans les cellules de la feuille de Tabac. Malgré la présence chez Pellia de microtubules homologues, on ne peut assimiler ce système microtubulaire organisé à la bande de préprophase observée dans les méristèmes foliaires de Phanérogames. En effet, J.D. PICKETT-HEAPS et D.H. NORTHCOTE reconnaissent la préprophase à la présence de plages de chromatine condensée et à une structure lâche du nucléole ; chez Pellia, la présence de chromatine condensée en un grand nombre de filaments courts et

épais, souvent groupés en plages étendues, caractérise la même phase. Or, les noyaux des spermatogonies qui sont environnés de microtubules ne montrent pas ces plages de filaments (pl. 20) : nous les considérons donc comme interphasiques.

La disposition des microtubules offre en outre chez Pellia, un mode de groupement différent de celui des tubules dans les cellules des Phanérogames étudiés. Chez le Blé et le Tabac, une seule bande préprophasique situe dans chaque cellule la position du futur plan de division. Chez Pellia, au contraire, des faisceaux de microtubules, groupés en un fuseau, sont dispersés à la fois à la périphérie du noyau et au voisinage de la membrane ectoplasmique.

Suivant l'orientation de la coupe, les microtubules des spermatogonies de Pellia apparaissent disposés comme les rayons d'une roue (fig. 2, pl. 18) ou groupés comme les brins d'une gerbe liée (pl. 20). Ils convergent vers une plage dépourvue d'inclusions cytoplasmiques volumineuses, mais souvent riche en ribosomes. Des canalicules appartenant au reticulum endoplasmique, porteurs ou non de ribosomes, suivent quelquefois la direction générale des tubules (fig. 2, pl. 18) ; des vésicules d'origine golgienne ou appartenant au reticulum, ainsi qu'un plaste, se trouvent souvent au voisinage du lieu de convergence ; le plaste est toujours localisé à l'extérieur du faisceau de tubules. Les régions de convergence correspondant aux pôles du fuseau ne montrent ni centriole ni couronne fibrillaire représentant une centrosphère. Nos observations chez Pellia ne sont donc pas en faveur des interprétations d'anciens auteurs qui, comme S. IKENO (1903) ou J.H. SCHAFFNER (1908) chez Marchantia polymorpha, ont étudié la spermatogénèse d'Hépatiques en microscopie photonique et conclu à la présence de cinétosomes aux pôles du fuseau achromatique.

Le système microtubulaire présent dans le cytoplasme des dernières générations de spermatogonies chez Pellia est différent de la bande de préprophase observée chez certains Phanérogames. D'autre part, le rapprochement des observations relatives au système microtubulaire des spermatogonies avec celles que nous avons pu faire sur le fuseau mitotique des spermatocytes met en évidence une similitude de l'organisation de ces systèmes : des canalicules appartenant au reticulum endoplasmique se trouvent parmi les microtubules, les plastes sont extérieurs au fuseau et il n'y a pas de centriole. Enfin, tous les microtubules qui apparaissent dans le cytoplasme des spermatogonies ou des spermatocytes de Pellia ont un diamètre uniforme de 250 A° environ.

A titre indicatif, les microtubules de la bande de préprophase, ceux du fuseau de mitose ou ceux du phragmoplaste des cellules foliaires de Tabac, mesurent tous 250 A° de diamètre (J. CRONSHAW et K. ESAU, 1968). Chez une Characée, Nitella missouriensis, étudiée par F.R. TURNER (1968), les microtubules fusoriaux mesurent 180 A° environ de diamètre. Le fuseau se forme au cours de la prophase ; l'auteur ne signale pas l'apparition de tubules avant l'entrée de la cellule en mitose.

Les nombreuses similitudes entre le fuseau interphasique des spermatogonies de Pellia et le fuseau de mitose sont autant de présomptions en faveur de l'identité de ces structures. Cette assimilation n'a pas la valeur d'une certitude car elle ne se fait pas sans quelques difficultés :

- à notre connaissance, l'édification du fuseau de mitose n'a pas été décrite aussi précocément. Chez une Nitelle (F.R. TURNER, 1968) et chez les Phanérogames, les microtubules fusoriaux apparaissent au cours de la prophase.

- lors de la division des spermatocytes en spermatides chez Pellia, le fuseau apparaît au cours de la prophase. D'au-

tre part, la chronologie que nous pouvons reconstituer à l'aide des documents dont nous disposons n'est pas suffisamment précise pour permettre d'envisager la persistance du fuseau de la division antérieure ou au contraire écarter cette hypothèse. Pour la même raison, nous ne pouvons donner aucun renseignement sur la pérennité de ce système : comme de profondes analogies peuvent le faire penser, le "fuseau interphasique" est-il bien l'ébauche précoce du fuseau mitotique de la division suivante ? A titre indicatif, nous rappelons que l'existence de la bande préprophasique est éphémère chez le Tabac, ainsi que l'ont établi J. CRONSHAW et K. ESAU (1968).

Nous avons donc mis en évidence dans les spermatogonies de Pellia, au cours de l'avant-dernière ou de la dernière interphase, l'existence d'un système constitué de faisceaux de microtubules ; la forme générale de ce système est celle d'un fuseau dont le ventre dilaté enserre le noyau. Ce "fuseau interphasique" pourrait correspondre à une apparition particulièrement précoce du fuseau mitotique.

7°)- Le phragmoplaste et la formation des cloisons cellulaires :

En fin de mitose, les vésicules golgiennes s'alignent dans une région médiane et fusionnent entre elles. Des vésicules appartenant au reticulum endoplasmique semblent fusionner avec des vésicules golgiennes et prendre part à la constitution du phragmoplaste. Cette possibilité est aussi suggérée par J. CRONSHAW et K. ESAU (1968) dans les cellules foliaires de Tabac.

La membrane plasmique de chaque cellule semble tirer son origine d'une réorganisation des constituants membranai-

naires des vésicules qui concourent à la formation de la plaque cellulaire ; elle devient progressivement continue, tandis que la partie médiane de la plaque cellulaire s'opacifie et constitue la lamelle moyenne, dont l'épaisseur demeure en général inférieure à celle de la paroi primaire.

III - Conclusions.

Le tissu spermatogène de la jeune anthéridie a tous les caractères d'un méristème. Les premières divisions se font avec récupération du nombre primitif des plastes durant l'interphase et les parois cellulaires s'édifient complètement avant le cloisonnement suivant. Par la suite, les cellules se cloisonnent souvent avant que la paroi résultant de la division précédente ne soit complètement édifiée, ce qui est interprété comme le signe d'une succession relativement rapide de cloisonnements cellulaires. Contrairement aux faits habituellement observés dans les méristèmes, cette augmentation d'activité mitotique s'accompagne d'un accroissement du volume de chaque plaste ; ce dernier phénomène semble lié à un ralentissement du rythme des bipartitions plastidiales, de sorte que les cellules héritent d'un nombre de plastes inférieur à celui des éléments dont elles sont issues. Les dernières générations de spermatogonies n'héritent que de deux plastes, qui se bipartissent durant l'interphase. Il apparaît dans le cytoplasme un système microtubulaire en forme de fuseau qui pourrait être l'ébauche du fuseau mitotique de l'avant-dernière ou de la dernière division des spermatogonies. La dernière interphase a une durée vraisemblablement supérieure aux précédentes. Les cloisons cellulaires s'édifient complètement. Les plastes subissent des modifications structurales consistant essentiellement en un étirement et une

densification de leur stroma, ainsi qu'en une orientation des lamelles suivant le sens de l'étirement. Certains éléments du chondriome se vésiculisent en partie ou en totalité ; les autres peuvent fusionner entre eux et leur matrice se densifie. De nombreuses régions du reticulum sont granulaires ; d'autres sont dilatées en éléments qui sont à l'origine de vacuoles. L'ultime cloisonnement des spermatogonies individualise les spermatocytes.

*

* *

C H A P I T R E II

LE SPERMATOCYTE

---oOo---

Les spermatocytes qui viennent de se différencier ont une constitution identique à celle de la dernière génération de spermatogonies, mais ils subissent bientôt une évolution importante dont les principaux faits sont les suivants :

- la transformation du plastidome, amorcée dans les spermatogonies, se poursuit et s'accompagne d'une accentuation de la vacuolisation du cytoplasme.

- les cellules se disjoignent puis s'ovalisent.

- le cloisonnement de chaque cellule est précédé de la différenciation d'un cinétosome.

I - Le spermatocyte à noyau interphasique :

1°)- Le noyau :

De forme sphérique, il contient un nucléole central et de nombreux chromocentres, certains périnucléolaires. Des

structures multilamellaires se forment quelquefois par altération de la membrane nucléaire interne ; elles sont libérées dans le cytoplasme par rupture du feuillet nucléaire externe.

2°)- Le plastidome :

Les deux plastes de chaque spermatocyte subissent des modifications morphologiques et structurales de plus en plus accentuées.

A - Modifications intervenant avant la disjonction des spermatocytes :

a)- Modifications morphologiques :

L'étirement des plastes s'accentue, leur calibre diminue et leur profit devient sinueux (fig. 2, pl. 21). Les extrémités de certains éléments plastidiaux se déprime en cuillère ; la coupe tangentielle d'une telle région apparaît comme une couronne autour d'une enclave de hyaloplasme (fig. 3, pl. 21) et la coupe transversale comme une plage de courbure plus ou moins accentuée.

b)- Modifications du système lamellaire :

Les thylacoïdes subissent des dilatations et des pincements successifs, les plus prononcés entraînant vraisemblablement la rupture des lamelles. Des vésicules claires peuvent ainsi s'isoler au sein du stroma.

c)- Modifications du stroma :

Le stroma devient plus dense aux électrons et acquiert un aspect granuleux. Il contient des vésicules claires (fig. 2, pl. 21), parmi lesquelles certaines sont issues de la fragmenta-

tion des thylacoïdes et d'autres résultent de l'isolement d'invaginations de la membrane plastidiale interne.

B - Modifications intervenant au cours de l'ovalisation des cellules :

Lorsque les spermatocytes perdent leur forme polyédrique et s'ovalisent, les deux plastes, allongés selon le plus grand axe de la cellule, se disposent symétriquement par rapport au noyau, qui conserve une position centrale (pl. 23). Chaque plaste atteint 8 à 10 µ dans sa plus grande dimension ; les feuillets de son enveloppe ménagent entre eux un intervalle de 50 à 100 A°, notablement inférieur à l'écartement de ceux de la paroi nucléaire. Le stroma demeure finement granuleux et contient, comme au stade précédent, des vésicules claires. Les thylacoïdes sont peu nombreux, courts et sinueux. L'observation de coupes successives d'un même spermatocyte permet de reconstituer la morphologie du plaste ; très étiré (jusqu'à 10 µ environ de longueur), légèrement aplati suivant un plan tangentiel au noyau, il est irrégulièrement mamelonné dans sa région médiane au niveau des inclusions amylacées.

Les diverses transformations qui ont lieu durant l'ovalisation des spermatocytes s'accompagnent d'une amylolyse, mais il n'y a pas disparition complète de l'amidon.

3°)- Le chondriome :

Les processus de dégénérescence des mitochondries qui s'étaient amorcées au cours de la dernière interphase des spermatogonies s'amplifient et se généralisent. Dans les spermatocytes, le volume des mitochondries augmente progressivement et leur matrice s'éclaircit, de sorte que tous

les éléments du chondriome sont finalement affectés d'une vésiculisation plus ou moins prononcée.

Cher certains éléments, ce phénomène ne va pas au delà d'un gonflement de l'organite, d'une désorganisation de certaines crêtes et d'un éclaircissement de la matrice. Ces éléments sont les seuls à subir d'importants remaniements structuraux dans les spermatides : la vésiculisation qui les affecte dans les spermatocytes est une transformation qui précède une réorganisation de l'ensemble du système mitochondrial. Le gonflement des mitochondries est connu depuis longtemps dans les tissus végétaux. Après l'avoir provoqué par une déshydratation, une élévation de température ou certains agents chimiques, P. DANGEARD (1942) observe que ce phénomène est réversible s'il n'est pas trop accentué ; par la suite, de nombreuses recherches en microscopie photonique sur divers tissus végétaux confirment ces résultats. La réversibilité de la vésiculisation du chondriome semble avoir été peu étudiée sur du matériel végétal en microscopie électronique. Chez le Rat, les mitochondries du foie apparaissent vésiculisées après un jeûne prolongé de l'animal et récupèrent progressivement un volume normal dès la reprise de l'alimentation (in P. FAVARD et N. CARASSO, 1961, p. 934).

Certaines mitochondries subissent une vésiculisation plus prononcée et se transforment en enclaves à double membrane ; leur contenu est granuleux et elles sont dépourvues de crêtes. Nous ne savons pas si ce phénomène représente une modification temporaire ou une altération irréversible. Par ailleurs, certaines vésicules à simple membrane se distinguent des vacuoles par leur forme sphérique et leur contenu granuleux ou pourvu de débris membranaires ; de telles enclaves sont supposées dériver de vésicules mitochondriales à enveloppe double par désorganisation de la membrane interne.

D'autres éléments du chondriome subissent une altération plus prononcée ; des feuillets osmiophiles s'organisent autour de membranes internes, donnant naissance à de multiples couches concentriques de forme plus ou moins régulière (ces formations multilamellaires ont été observées après fixation au glutaraldéhyde postosmié). Certaines vésicules mitochondriales à double membrane ainsi que les vésicules à structure multilamellaire sont progressivement éliminées au cours de l'évolution des spermatocytes et ne parviennent pas dans les spermatides. La vésiculisation prononcée et l'organisation multilamellaire sont donc des altérations irréversibles qui aboutissent à une élimination d'une partie du chondriome selon deux modalités.

a)- Certaines mitochondries dégénérées sont rejetées dans l'espace péricellulaire au moment de la disjonction des spermatocytes (à ce sujet, voir plus loin le 5° de ce chapitre).

b)- D'autres sont progressivement englobées par des dilatations du reticulum endoplasmique en forme de cupule : d'abord reliée au cytoplasme par une sorte de pédicelle, la vésicule n'est qu'une "protrusion cytoplasmique" semblable à celles observées par Mme C. COULOMB et R. BUVAT (1968) dans les racines de Courge. Par la suite, certaines vésicules sont contenues dans des vacuoles globuleuses et apparaissent totalement isolées du cytoplasme. Un processus comparable de dégénérescence du chondriome a été observé dans le bourgeon de Solanum tuberosum par P. COULOMB (1968) ainsi que dans la racine de Cucurbita pepo par Mme C. COULOMB (1968). Par ailleurs, ces deux auteurs mettent en évidence au niveau des vacuoles contenant les mitochondries dégénérées, divers enzymes (phosphatase acide, désoxyribonucléase acide) dont la présence permet d'attribuer une fonction ly-

sante au contenu de ces enclaves. Nous n'avons pas recherché les lieux d'activité d'enzymes intervenant dans la lyse de structures cellulaires, mais la similitude des aspects observés chez Pellia avec ceux décrits chez la Courge et la Pomme de Terre semble nous autoriser à attribuer une fonction lytique à certaines vacuoles des spermatocytes de Pellia.

En résumé, les éléments du chondriome subissent dans les spermatocytes de Pellia une vésiculisation qui est réversible lorsqu'elle se limite à un gonflement de l'organite et une clarification de sa matrice. L'organisation du contenu mitochondrial en formations multilamellaires est une altération dégénérative qui aboutit à l'élimination d'une partie du chondriome principalement au cours de l'ovalisation des cellules ; le rejet des organites dégénérescents peut être précédé de leur englobement par des dilatations du reticulum et de leur lyse partielle dans ces vacuoles autolytiques. L'élimination des mitochondries dégénérées ne semble pas compensée par la formation de nouveaux éléments, de sorte que le contingent d'une cellule diminue progressivement ; les spermatides héritent d'un nombre réduit de mitochondries qui sont par ailleurs vésiculisées. Cette vésiculisation généralisée entraîne certainement des perturbations du métabolisme respiratoire plus prononcées que dans la dernière génération de spermatogonies (cf. chapitre précédent) : l'évolution des spermatocytes se caractérise vraisemblablement par une "anoxie" très accentuée.

4°)- Le reticulum endoplasmique :

Les systèmes à double feuillet appartenant au reticulum endoplasmique sont peu développés ; quelques travées bifurquées, le plus souvent agranulaires, sont dispersés dans la cellule. Les régions ergastoplasmiques sont rares.

Dans les spermatocytes en cours de disjonction, des portions du reticulum agranulaire s'ordonnent en structures concentriques (fig. 1, pl. 22) ; des lames de cytoplasme persistent entre les travées emboitées. Certaines de ces formations semblent évoluer en corps multilamellaire par délamination de leurs membranes constitutives et élimination du cytoplasme entre les travées.

Des formations d'aspect analogue ont été décrites dans les cellules animales sous le nom de "Nebenkerns ergastoplasmiques" et dans les cellules végétales sous les noms de "Nebenkerns" ou de "corps en écailles". Ce dernier vocable, proposé par P. GAVAUDAN et coll. (1962), nous paraît préférable. Dans le règne animal, des corps en écailles ont été observés à maintes reprises, par exemple dans le spermatocyte d'Ecrevisse (A. RUTHMANN, 1958(1)), l'ovocyte de Tégénaire (J. ANDRE, 1957(1)) ou les cellules oxyphiles de la parathyroïde de Macaque (J.S. TRIER, 1958(1)). On les connaît également dans des éléments soumis à des conditions anormales ou présentant des caractères pathologiques, tels que les spermatocytes de Cobaye isolés hors de leur milieu normal (D.W. FAWCETT et S. ITO, 1958(1), les tumeurs d'origine virale (hépatome de Souris, D.W. FAWCETT et W.J. WILSON, 1955(2)), les tumeurs induites par des oestrogènes (cellules adénohypophysaires du Rat, F. HAGUENAU et F. LACOUR, 1954(2)), les cellules hépatiques de Rat ayant reçu de la diméthylnitrosamine (P. EMMELOT et E.L. BENEDETTI, 1960(2)) ...

Dans le règne végétal, les observations sont également nombreuses. La formation de corps en écailles s'observe dans

---

(1)- Cité d'après P. GAVAUDAN et coll., 1962.

(2)- Cité d'après N. CARASSO et P. FAVARD, 1961.

les conditions normales au cours de la gamétogénèse (sac embryonnaire d'Hellébore - J. EYMÉ, 1961) et dans des conditions anormales dans des cellules de méristèmes radiculaires lésées par une anoxie prolongée - atmosphère d'azote ou diminution de la pression atmosphérique (P. GAVAUDAN et coll., 1960-1962 ; M. WRISCHER, 1960[1]) - ou par un choc thermique - (P. GAVAUDAN et coll., 1963) - ou bien encore soumis à l'action de substances telles que le cyanure de potassium, le nitrure de sodium ou l'hydrate de chloral (P. GAVAUDAN et coll., 1962) qui sont supposées perturber le mécanisme de la respiration cellulaire. M. ARNAUDON, H. POUSSEL et M. ROUGIER (1967) ont constaté une diminution de la consommation d'oxygène des méristèmes radiculaires traités par le diéthyldithiocarbamate de sodium, qui semble inhiber le cytochrome c. J.F. MESQUITA (1968) constate une baisse de l'absorption d'oxygène chez les racines d'Oignon traitées par un autre carbamate, le phényluréthane. Il est donc probable que ces deux carbamates inhibent des enzymes qui participent au transfert d'électrons : la formation de corps en écailles apparaît comme la conséquence vraisemblable d'une diminution des oxydations cellulaires. La présence de ces formations dans le spermatocyte de Pellia est en accord avec l'hypothèse émise sur la signification des modifications du chondriome : ces deux faits suggèrent que le métabolisme respiratoire est sérieusement perturbé dans ces cellules.

Des formations concentriques d'aspect analogue aux corps en écailles ont été observés dans les spermatocytes d'Ascaris par P. FAVARD en 1958 (in N. CARASSO et P. FAVARD, 1961) : des doubles feuillets s'organisent en couches concentriques autour d'un granule lipidique ; celui-ci se transforme en granule pro-

(1)- Cité d'après P. GAVAUDAN et coll. 1962.

téique et les structures concentriques disparaissent. Il s'agit dans ce cas d'une organisation particulière de l'ergastoplasme, qui est vraisemblablement en rapport avec le métabolisme protéique, comme le font penser certaines recherches sur les cnidoblastes d'une Hydre et l'apparition de nombreuses vésicules ergastoplasmiques dans les hépatocytes d'animaux réalimentés après une période de jeûne prolongée.

Les corps en écailles semblent représenter dans les spermatocytes polyédriques de Pellia des formations nécrotiques susceptibles d'évoluer en corps multilamellaires et qui sont éliminées de la cellule à plus ou moins brève échéance. Par ailleurs, le reticulum est à l'origine d'un important vacuome.

5°)- Le vacuome :

Le vacuome des spermatocytes polyédriques est essentiellement constitué d'enclaves autolytiques tirant leur origine de dilatations du reticulum endoplasmique.

Nous avons précédemment signalé la formation de vacuoles qui englobent des mitochondries dégénérées (voir 3e de ce chapitre). Des dilatations du reticulum en forme de cupules peuvent aussi englober progressivement des portions de cytoplasme pourvues de ribosomes et même d'oléosomes ou bien des corps multilamellaires probablement issus de l'évolution de corps en écailles (voir à ce sujet ci-dessus, le 4° de ce chapitre) et assurer leur lyse partielle à la façon des vacuoles autolytiques observées dans les racines de Courge par Mme C. COULOMB et R. BUVAT (1968). Les régions cytoplasmiques ne sont d'abord que des protrusions à l'intérieur des vacuoles, mais il semble que leur fragmentation

aboutisse à l'isolement de lambeaux (fig. 4, pl. 21) ; la lyse de ces fragments se manifeste d'abord par un effacement de leur membrane limitante ainsi que des ribosomes et aboutit à la formation de corps figurés clairs, informes et mal délimités dans lesquels sont parfois reconnaissables des débris membranaires. La lyse des structures multilamellaires se manifeste par un écartement des membranes osmiophiles constitutives et par leur rupture en certaines régions ; des systèmes de membranes osmiophiles ondulées et irrégulièrement enroulées sont ainsi rejetés dans l'espace péricellulaire lors de la disjonction des cellules ; la lyse de ces ensembles s'achève dans le gel en formation et ils s'y effacent progressivement.

Toutes ces observations montrent que les dilatations du reticulum évoluent en vacuoles contenant des principes capables de lyser des composés phospholipidiques ainsi que les constituants du cytoplasme. Dans les spermatocytes, le vacuome a donc un rôle déterminant dans l'élimination d'organites nécrosés. D'autre part, le processus de formation du gel intercellulaire montre que le vacuome joue un rôle fondamental dans le remaniement de l'organisation tissulaire.

Dans la phase qui précède la disjonction des spermatocytes, le volume vacuolaire représente une fraction importante du volume cellulaire. Par suite des processus mis en jeu lors de l'individualisation des cellules ovalisées (voir plus loin le 7° de ce chapitre), le volume vacuolaire décroît brusquement et les spermatocytes indépendants sont pratiquement dépourvus de vacuome.

Remarques :

a)- L'origine des vacuoles :

Dans les dernières générations de spermatogonies aussi bien que dans les spermatocytes, il a été reconnu que les vacuoles, et

en particulier les vacuoles autolytiques, tirent leur origine du reticulum endoplasmique. Cette opinion, affirmée par R. BUVAT dès 1957 après une étude des cellules méristématiques de Graminées et d'une Composée, puis vérifiée par Mlle N. POUX (1961) sur des Graminées, reçoit par la suite l'adhésion de nombreux chercheurs, bien que certains, tels P. SITTE (1958), nient toute relation entre le vacuome et le reticulum.

b)- Les vacuoles autolytiques :

De telles formations ont été décrites dans les cellules animales et les cellules végétales. C'est ainsi que A.B. NOVIKOFF et W.Y. SHIN (1964) observent des "vacuoles autophagiques" (identiques aux "residual bodies" d'autres auteurs) dans les hépatocytes du Rat : ces vacuoles naissent de l'isolement d'un territoire cytoplasmique par du reticulum endoplasmique agranulaire. Elles peuvent contenir une mitochondrie, des feuillets appartenant au reticulum endoplasmique ou des vésicules peut-être d'origine golgienne ; les images observées suggèrent la dégradation des constituants cytoplasmiques qui sont contenus dans l'enclave.

Dans les cellules végétales, les observations de cet ordre deviennent de plus en plus nombreuses. La lyse de portions cytoplasmiques a été reconnue chez les Champignons par divers chercheurs (voir à ce sujet R. BUVAT, 1968) et chez les Phanérogames notamment par Mlle N. POUX (1963) puis par R. BUVAT (1968) ainsi que C. et P. COULOMB (1968-1969). Les observations de ces auteurs sont à rapprocher de celles de Mlles C. CAMPAN, D. CAMPAN et B. PASQUET (1968) sur les cellules nectarigènes de diverses Borraginacées, Crucifères ou Labiées. Tous ces auteurs observent la désorganisation de structures cytoplasmiques suivant des processus analogues à ceux observés dans les spermatocytes de Pellia epiphylla.

6°)- Les autres constituants cytoplasmiques :

- L'appareil de Golgi est bien développé ; trois ou quatre dictyosomes sont le plus souvent visibles dans la coupe médiane d'une cellule ; ils ont la même forme et les mêmes dimensions que ceux des spermatogonies. Les vésicules golgiennes, de 0,15 à 0,20 µ de diamètre en général, sont très abondantes et demeurent souvent rassemblées autour des saccules golgiens. Leur contenu apparaît finement granuleux et dense aux électrons.

- Les ribosomes non accolés aux feuillets du reticulum endoplasmique sont dispersés dans tout le cytoplasme.

- Les oléosomes sont peu nombreux, isolés ou groupés par deux ou trois ; ils sont peu osmiophiles et atteignent généralement 0,3 à 0,4 µ de diamètre.

7°)- La disjonction des spermatocytes et la formation du gel intercellulaire :

Lorsque les spermatocytes forment un véritable tissu, leur paroi cellulaire est constituée d'une couche dense aux électrons, la lamelle moyenne, bordée de part et d'autre par une couche claire, la paroi primaire de deux cellules voisines. Ainsi que nous l'avons mentionné précédemment, le cytoplasme des spermatocytes polyédriques recèle de nombreuses vacuoles dont l'ensemble représente une fraction importante du volume cellulaire.

La disjonction des spermatocytes met en jeu les mêmes processus que celle des sporocytes. Des ruptures localisées du plasmalemme et du tonoplaste libèrent le suc vacuolaire dans l'espace péricellulaire ; il s'ensuit une gélification des composés de la paroi primaire, tandis que la lamelle moyenne persiste temporairement ; la surface cellulaire, d'abord irrégulière et dé-

primée dans les régions correspondant aux vacuoles rompues, se régularise par la suite ; la cellule acquiert progressivement une forme ovale alors que les traces de la lamelle moyenne sont encore visibles dans le gel intercellulaire (pl. 23) ; par la suite, celles-ci s'effacent (fig. 1, pl. 24). Les spermatocytes ovalisés sont pratiquement dépourvus de vacuoles ; le gel intercellulaire est directement au contact du plasmalemme comme dans le cas des jeunes sporocytes ; les spermatocytes ovalisés sont dépourvus de paroi propre. Ils demeurent en contact les uns avec les autres par quelques plages de surface réduite (pl. 23 et 26) ; seuls les spermatides deviennent indépendants par suite de la formation d'une coque mucilagineuse à la périphérie d'un gel péricellulaire, différent du gel intercellulaire. Ce dernier n'est pas homogène : des globules clairs sont en suspension dans une masse qui apparaît très finement granuleuse sur les électromicrographies. Cette hétérogénéité du gel est une conséquence de la variété des composés qui prennent part à sa formation : des débris d'organites lysés dans les vacuoles autolytiques des spermatocytes polyédriques enrichissent en composés d'origine cytoplasmique la masse résultant de la gélification des parois cellulaires.

8°)- Les variations d'osmiophilie des inclusions amylacées :

Les chloroplastes de Pellia élaborent un véritable amidon qui réagit rapidement en bleu-noir avec le réactif de Lugol. Les petites inclusions amylifères des jeunes spermatogonies sont fortement osmiophiles, tandis que l'osmiophilie est nulle ou réduite à la périphérie dans les inclusions plus volumineuses. Les inclusions intraplastidiales des spermatogonies en cloisonnement actif ne sont pas osmio-

philes. Les plus petites inclusions amylacées des spermatocytes polyédriques le sont fortement mais les régions centrales des plus volumineuses demeurent claires. Dès que les spermatocytes se disjoignent, les grains d'amidon perdent toute affinité pour l'osmium. Ces résultats sont constants ; ils ne dépendent que du stade de développement et non des conditions de fixation. Ils suggèrent que la variation d'osmiophilie de l'amidon est en relation avec l'état physico-chimique de la substance et reflète des variations du métabolisme plastidial.

Du point de vue physico-chimique, des différences de polymérisation des molécules pourraient intervenir ; du point de vue métabolisme, il est à noter que l'amidon n'est pas osmiophile pendant les périodes d'intense activité cellulaire (cloisonnement des spermatogonies, ovalisation des spermatocytes) alors que ce caractère se manifeste durant les périodes de moindre activité (jeunes spermatogonies) ou de nécrose (spermatocytes polyédriques). Il semble donc possible de relier les variations d'osmiophilie de l'amidon à celles de l'activité synthétique des plastes. L'absence de hile et de zones de croissance peut être spécifique ou bien due à l'emploi d'agents déshydratants puissants lors de l'inclusion du tissu dans la résine.

II - Le cloisonnement des spermatocytes :

Chaque spermatocyte se cloisonne et donne naissance à deux spermatides. La plaque cellulaire s'édifie selon un plan sensiblement perpendiculaire à celui déterminé par les deux plastes.

1°)- La mitose et le retour du noyau à la structure interphasique :

L'unique mitose des spermatocytes s'annonce par l'apparition dans le nucléoplasme de fibrilles de chromatine de 300 A° environ de diamètre, courtes et denses aux électrons, caractéristiques du stade de préprophase. Dans l'anthéridie parvenue à ce stade de développement, le synchronisme des divisions n'est pas rigoureux : des spermatocytes pourvus d'un noyau en préprophase voisinent en effet avec des cellules dont le noyau est en télophase. Les métaphases et les anaphases sont rares, ce qui suggère la courte durée de ces stades, hypothèse qui est en accord avec les faits connus chez les Phanérogames.

En fin d'anaphase, les masses chromatiniennes atteignent les pôles du fuseau et certaines travées de reticulum s'appliquent contre elles. Lors du tassement polaire (fig. 1, pl. 24 et pl. 25), la chromatine est répartie en deux masses de forme irrégulière, les digitations les plus prononcées se trouvant du côté de la plaque cellulaire. A ce stade, ces masses sont complètement enveloppées d'un double feuillet dont l'écartement est variable et qui est apparemment dépourvu de pores. Cette double membrane, qui est à l'origine de la paroi nucléaire, conserve de fréquents rapports de continuité avec les systèmes membranaires du reticulum. En fin de télophase, la forme du noyau se régularise, la chromatine se disperse dans le nucléoplasme ou demeure agglomérée au chromocentres. Un nucléole se reconstitue mais il est beaucoup moins volumineux et moins osmiophile que celui des stades antérieurs (moins de 1 µ de diamètre pour un noyau de 4 à 5 µ).

2°)- Les microtubules du fuseau mitotique :

Pendant les stades tardifs de l'anaphase ou du tassement polaire, de nombreux microtubules subsistent dans le cytoplasme (fig. 2, pl. 24). D'un calibre d'environ 250 A°, ils atteignent plusieurs microns de longueur ; certaines portions apparaissent légèrement ondulées, mais les images observées chez Pellia sont beaucoup moins suggestives à ce point de vue que celles publiées par J. CRONSCHAW et K. ESAU (1968) dans leur étude du cloisonnement cellulaire chez le Tabac.

3°)- Les extrusions nucléaires :

A proximité de la nouvelle enveloppe nucléaire, il existe dans le cytoplasme des spermatocytes des rassemblements denses de filaments d'environ 300 A° de calibre, courts et opaques aux électrons (pl. 25) ; ces éléments ont une structure analogue aux fibrilles de chromatine qui s'individualisent dans le nucléoplasme durant la préprophase. Cette similitude de structure nous incite à identifier ces amas à des extrusions intracytoplasmiques de matériel chromatinien d'origine nucléaire. Leur situation symétrique par rapport à la plaque cellulaire séparant une paire de futures spermatides telle que celle de la fig. 1, pl. 24, suggère que ces formations tirent leur origine de zones homologues des deux noyaux-fils. Ces amas n'ont pas été retrouvés dans les spermatides individualisées et nous ignorons pour l'instant leur devenir.

Finalement, nous signalons l'existence dans les spermatocytes de Pellia epiphylla au cours des stades tardifs de la mitose, d'amas extranucléaires que nous supposons de nature chromatinienne ; cette dernière hypothèse ne repose que sur une analogie structurale avec les fibrilles préprophasiques, aucune digestion enzymatique spécifique n'ayant été pratiquée en

vue de déterminer la catégorie d'acides nucléiques constitutifs de ces formations. Ces amas se distinguent aisément de la chromatine qui constitue le noyau par leur structure fibrillaire et le fait qu'ils ne sont pas enveloppés par des systèmes membranaires appartenant au reticulum endoplasmique. Il n'y a donc pas à proprement parler "extrusion" nucléaire puisque le matériel constitutif des amas ne s'échappe pas du noyau ; nous avons conservé ce terme car nous pensons que le phénomène mis en évidence chez Pellia est comparable aux faits signalés en microscopie photonique et décrits sous le nom d'"extrusions nucléaires".

L'existence d'extrusions nucléaires chez les Bryophytes fait l'objet d'une première mention de notre part en microscopie électronique. Par contre, la formation d'extrusions a été observée en microscopie photonique par divers auteurs et a été l'objet d'hypothèses variées.

Dans les spermatogonies d'une Hépatique, Marchantia polymorpha, S. IKENO (1903) observe la formation d'une extrusion nucléaire qui est, pour lui, à l'origine d'un centrosome. Ni extrusion nucléaire, ni centrosome n'ont été mis en évidence dans les spermatogonies de Pellia epiphylla.

Dans les jeunes spermatides d'une Mousse, Mnium hornum, M. WILSON (1911) observe l'extrusion d'une portion du nucléole dans le cytoplasme ; cette formation se scinde en deux fragments, dont l'un est à l'origine du "blépharoplaste" et l'autre à celle du corps basal. Il résulte des observations ultrastructurales de plusieurs chercheurs que le corps basal des Mousses, comme celui de Pellia, est constitué dans la spermatide par l'accolement d'une fraction mitochondriale au plaste. Chez Pellia, les extrusions nucléaires et le corps basal ne coexistent pas et il n'a été mis

en évidence aucune relation entre la formation du corps basal dans la spermatide individualisée et l'effacement des extrusions nucléaires.

La formation d'extrusions nucléaires a été observée chez plusieurs Mousses par J. EYMÉ (1953) ; cet auteur décrit le passage d'un volumineux chromocentre du noyau interphasique de la spermatide dans le cytoplasme et pense que cette extrusion nucléaire Feulgen positive est à l'origine des cinétosomes. Plusieurs divergences avec nos propres observations chez Pellia doivent être signalées. Tout d'abord, les extrusions nucléaires ont été mises en évidence chez Pellia durant les stades tardifs du cloisonnement des spermatocytes mais n'ont pas été reconnues dans les spermatides individualisées pourvues d'un noyau interphasique. Ces extrusions apparaissent chez Pellia comme des amas de fibrilles qui ne sont pas enveloppées par du reticulum endoplasmique : il n'a pas été mis en évidence un passage de chromatine en direction du cytoplasme au travers de la paroi du noyau des spermatides. Enfin, la présence de cinétosomes a été établie à un stade antérieur au cloisonnement des spermatocytes et à la mise en évidence des extrusions nucléaires ; il semble donc n'y avoir aucun rapport chez Pellia entre la formation de ces organites et celle des extrusions nucléaires.

4°)- Les autres constituants cytoplasmiques :

L'accroissement du nombre des ribosomes depuis la prépro-phase jusqu'à la télophase est l'indice d'un accroissement des synthèses protéiques au niveau du cytoplasme, la plupart des ribosomes étant associés en polysomes. Au cours de la mitose, les deux plastes se disposent sous le plasmalemme, symétriquement par rapport au phragmoplaste ; leur lamination s'accentue et la taille des inclusions amylifères décroît ; au moment de la télophase, le matériel chromatinien se rassemble sous chacun d'eux.

Presque tous les éléments du chondriome qui subsistent dans le spermatocyte en cours de cloisonnement sont vésiculisés. Les travées du reticulum endoplasmique sont le plus souvent agranulaires et demeurent en relation avec l'enveloppe nucléaire. Quelques enclaves de 0,5 μ de diamètre sont principalement localisées à la périphérie de la cellule, au voisinage de la plaque cellulaire ; elles représentent des vacuoles autolytiques de petite taille ou bien l'évolution ultime de vésicules mitochondriales.

5°)- La plaque cellulaire :

Au cours de la télophase, l'édification de la plaque cellulaire qui individualise les spermatides diffère notablement de celle d'une cloison mitoyenne dans les méristèmes de Phanérogames.

Des dictyosomes, entourés d'une profusion de vésicules golgiennes, sont particulièrement abondants à la périphérie de l'équateur du fuseau mitotique. Ces vésicules à contenu dense aux électrons, migrent en direction du centre de la cellule et fusionnent de proche en proche en donnant naissance à des plages finement granuleuses (pl. 25). A ces éléments se mêlent des mitochondries vésiculisées qui fusionnent entre elles et avec les plages d'origine golgienne (pl. 25). La plaque cellulaire, d'abord discontinue (pl. 26), se complète progressivement. Les tubules du fuseau mitotique traversent la plaque cellulaire au début de sa formation (fig. 2, pl. 24 et pl. 25) et se désorganisent par la suite. Il se constitue ainsi une paroi commune aux deux spermatides issues d'un même spermatocyte. La participation de mitochondries dégénérées à sa genèse, l'absence de plasmodesmes dans la paroi complète, l'absence de différenciation apparente en lamelle moyenne et couche primaire, sont autant

de caractères qui éloignent cette formation des parois cellulaires de Phanérogames. Son évolution ultérieure dans la spermatide confirme d'ailleurs cette idée : la paroi commune demeure mucilagineuse et sa périphérie élargie entre en continuité avec une coque dans laquelle les deux spermatides-soeurs occupent chacune un compartiment. Cet ultime cloisonnement cellulaire ne s'effectue pas d'ailleurs sans que certains processus ne viennent accidentellement troubler le partage équationnel des cytoplasmes : par exemple, une expansion du noyau ou du cytoplasme d'une spermatide peut faire saillie dans le compartiment voisin.

III - La différenciation de cinétosomes :

Un petit nombre de clichés nous ont permis de reconnaître un cinétosome au voisinage du noyau en préprophase, à proximité d'un plaste et dans une région voisine de la future plaque cellulaire. Celui-ci, constitué de 9 triplets, n'est pas accompagné de différenciations cytoplasmiques ; la région qui l'entoure est d'une richesse en ribosomes comparable à celle du reste de la cellule. Sa présence est donc établie dans les spermatocytes à un stade précédant leur cloisonnement ; elle a été recherchée en vain dans les stades antérieurs du développement du tissu spermatogène. L'absence de preuves formelles ne permet pas de nier l'existence de cinétosomes au cours de ces stades, mais seulement d'en douter.

Dans les spermatocytes en cours de mitose dont le noyau est en fin d'anaphase ou en télophase, la présence d'un cinétosome a été observée à proximité immédiate du noyau et d'un plaste, dans une région périphérique de la cellule voisine de l'un des pôles du fuseau (fig. 4, pl. 33). Comme dans les spermatocytes

en préprophase, aucune différenciation cytoplasmique n'est visible au voisinage de cet organite ; en particulier, il n'induit pas de différenciations comparables à la centrosphère ou à l'aster décrits dans diverses cellules animales et dont la formation semble être dirigée par un centriole. Nous admettons provisoirement que chacun des cinétosomes des spermatocytes en cours de cloisonnement se dispose au voisinage immédiat de l'un des pôles du fuseau mitotique, mais ne joue pas de rôle dans l'édification de ce système fibrillaire. Bien que nous n'en ayons observé qu'un seul par cellule, nous pensons que chaque spermatocyte en mitose contient 2 cinétosomes, un au voisinage de chaque pôle du fuseau. Ainsi qu'il sera dit dans le chapitre suivant, chaque spermatide hérite d'un seul cinétosome, dont les deux organites-fils résultant de sa réplication sont à l'origine de flagelles. En définitive, les organites à structure en 9 triplets observés dans les spermatocytes se transmettent aux spermatides, où ils fonctionnent comme des "cinétosomes" qui sont à l'origine de la "cinétide" selon le vocable proposé par E. CHATTON (1924). Cet auteur réserve les termes de "centrosome" et de "centriole" aux organites de même structure que les cinétosomes mais intervenant dans des phénomènes mitotiques et ne donnant pas naissance à des flagelles ou bien à des cils.

Ces observations suggèrent quelques remarques.

a)- Les auteurs qui ont étudié chez divers Bryophytes les modifications ultrastructurales de la cellule au cours de la spermatogénèse ne mentionnent pas la présence de cinétosomes à un stade ontogénique antérieur aux spermatides ; chez Pellia, nous avons établi que des cinétosomes sont différenciés dans les spermatocytes ovalisés à un stade antérieur à leur cloisonnement.

b)- Les travaux de E.R. DIRKSEN et T.T. CROCKER (1965) sur les cellules épithéliales des embryons de Rat montrent que la formation de nouveaux centrioles met en jeu des acides nucléiques qui naissent en association avec le centriole d'origine. En l'absence de documents, nous ne pouvons nous prononcer ni sur l'origine du cinétosome ni sur les processus de réplication de cet organite chez Pellia. Rappelons seulement que les cinétosomes ont été observés dans les spermatides à des stades antérieurs à ceux auxquels ont été mis en évidence des amás fibrillaires que nous supposons de nature chromatinienne et que nous homologuons aux extrusions nucléaires observées en microscopie photonique. Bien qu'aucune de nos observations ne le suggère, il demeure néanmoins possible que des composés extrus du noyau soient passés inaperçus et qu'ils soient à l'origine de cinétosomes.

c)- Chez Pteridium aquilinum, Y. TOURTE et Mme G.HUREL-PY (1967) montrent qu'un diplosome naît dans les spermatocytes ; il ne prend pas part à la mitose et ne donne pas naissance à des flagelles mais à de nombreux cinétosomes. Les faits sont comparables chez Pellia, où les cinétosomes apparaissent dans le spermatocyte mais ne bourgeonnent des flagelles que dans les spermatides.

Y. TOURTE et G. HUREL-PY suggèrent que la réplication des cinétosomes pourrait être le résultat d'un étirement des organites puis de leur fragmentation. Il est à remarquer que ce processus est très différent de celui évoqué par E.R. DIRKSEN et T.T. CROCKER, ce qui signifie peut-être que les structures à 9 triplets ne sont pas toutes équivalentes. Par ailleurs, la distinction centriole-cinétosome est parfois bien fragile, ainsi que le montrent les recherches de F.R. TURNER (1968) sur Nitella missouriensis ; dans les spermatocytes de cette Characée, chacun des deux diplosomes qui se différencient se dispose à l'un

des pôles du fuseau et se trouve environné de nombreux microtubules, ce qui suggère la possibilité d'un rôle dans la mitose. Chaque spermatide hérite d'une paire de centrioles qui fonctionnent alors comme cinétosomes et donnent naissance à deux flagelles.

IV - Conclusions :

Des modifications structurales très importantes se déroulent au cours de l'évolution du spermatocyte. Dans les cellules peu évoluées, certaines mitochondries se vésiculisent, d'autres subissent une densification de la matrice. A un stade ultérieur du développement ontogénique, tous les éléments du chondriome apparaissent vésiculisés ; chez certains d'entre eux, ce phénomène est irréversible et provoque une dégénérescence de l'organite, qui est éliminé de la cellule ; cette élimination n'étant pas compensée par une genèse de nouveaux éléments, il s'ensuit un appauvrissement de la cellule en ces organites et la transmission aux spermatides d'un contingent réduit de mitochondries. Le réticulum endoplasmique persiste à l'état de travées souvent agranulaires et donne naissance à deux types de formations ; d'une part, des corps en écailles qui évoluent en structures multilamellaires ; d'autre part, des dilatations d'abord cupuliformes, à l'origine de vacuoles qui englobent progressivement des mitochondries dégénérées, des formations multilamellaires ou des portions de cytoplasme et en assurent la lyse partielle. Le vacuome, représenté dans les spermatocytes polyédriques principalement par des enclaves autolytiques, joue un rôle fondamental dans l'élimination d'organites dégénérescents ainsi que dans la disjonction des spermatocytes polyédriques. La formation de corps en écailles et la vési-

culisation du chondriome sont les signes d'une profonde modification du mécanisme des oxydations cellulaires. Les deux plastes, dont l'étirement s'accentue constamment, subissent une réorganisation interne et se disposent de part et d'autre de la future cloison, symétriquement par rapport au noyau, sphérique et central, de chaque spermatocyte ovalisé. L'amidon synthétisé au cours d'une première phase, est à peu près complètement utilisé durant l'ovalisation de la cellule, puis son cloisonnement. Les vésicules golgiennes, fort nombreuses dans les spermatocytes ovalisés, fusionnent entre elles et avec des mitochondries dégénérées, ces deux types d'organites participant à l'édification de la cloison commune aux deux spermatides issues du même spermatocyte. Enfin, des cinétosomes se différencient dans les spermatocytes à un stade antérieur à leur cloisonnement ; chacun d'eux se dispose au voisinage de l'un des pôles du fuseau mitotique mais ne se montre en rapport avec aucune différenciation cytoplasmique. Des amas de chromatine à l'état de filaments épais ne sont pas entourés par des travées du reticulum endoplasmique dans les derniers stades du cloisonnement et persistent dans le cytoplasme sous une forme comparable aux "extrusions nucléaires" décrites en microscopie photonique.

---oOo---

C H A P I T R E III

LA SPERMATIDE

---oOo---

La connaissance de l'évolution structurale de la spermatide est capitale pour la compréhension de la spermatogénèse : tous les constituants de la dernière génération cellulaire de l'anthéridie subissent en effet des transformations très importantes, alors que de nouvelles structures s'édifient. La spermatide biflagellée entre dans une ultime phase de différenciation qui aboutit à la constitution du spermatozoïde, fonctionnel. La difficulté du sujet a inspiré de nombreux travaux sur l'ensemble des Bryophytes, et en particulier sur les Hépatiques ; les plus importants d'entre eux sont rappelés au cours de l'exposé de nos résultats. Avant d'aborder l'étude de l'évolution de chaque système cellulaire, nous avons jugé nécessaire de préciser la constitution de la spermatide qui vient de se différencier et de faire connaître son évolution générale.

I - Constitution de la spermatide au moment de son individualisation :

Chaque spermatide a la forme d'une demi-sphère (sch. 5c) ; le noyau, avec nucléole et chromocentres, occupe une

place importante. Un seul plaste très allongé, porteur de 1 à 3 inclusions amylacées, est disposé entre le noyau et le plasmalemme, sur la face externe[1] de la spermatide ; son stroma est dense et son système lamellaire réduit à quelques longs thylacoïdes disposés parallèlement au grand axe. Le chondriome est représenté par un nombre restreint de mitochondries vésiculisées à matrice claire et crêtes réduites. Plusieurs dictyosomes émettent de nombreuses vésicules claires qui deviennent souvent volumineuses. Les ribosomes sont abondants ; ils sont groupés en amas dispersés dans le cytoplasme ou rassemblés en formations denses. En général, ils ne sont pas associés au reticulum endoplasmique, qui est représenté à cette phase par des travées souvent courtes et bifurquées. Quelques vacuoles autolytiques contenant des fragments en voie de lyse sont également reconnaissables dans le cytoplasme. Les oléosomes sont peu nombreux et souvent groupés. Enfin, un cinétosome est présent sous le plasmalemme, au voisinage du plaste et du noyau.

II - Evolution générale du noyau, du plaste, du chondriome et de la cinétide dans la spermatide :

Au cours de son évolution (sch. 5), la cellule s'ovalise progressivement.

1°)- Le noyau prend une position excentrique : les mitochondries se groupent dans la région opposée au noyau et le plaste commence à se rétracter (sch. 5d). Désormais, un pôle nucléaire

(1)- Nous désignons par les termes de "face interne" la région voisine de la paroi qui sépare deux spermatides, et de "face externe" la région opposée.

se distingue à l'opposé d'une région essentiellement cytoplasmique. La suite de l'évolution montre que le pôle nucléaire a la valeur d'un pôle antérieur. Le cinétosome est toujours dans la partie médiane de la cellule, contre sa face externe.

2°)- Toutes les mitochondries fusionnent vraisemblablement en un seul ensemble (sch. 5e) et certains lobes de ce "Nebenkern"(1) s'accolent au plaste. Le cinétosome se réplique ; l'ébauche d'une structure complexe, la "plaquette stratifiée", apparaît sous les deux cinétosomes, dans une région moyenne de la cellule, au voisinage de sa face externe, du Nebenkern et du plaste. Cette ébauche, d'abord courte, s'allonge progressivement.

---

(1)- En 1867, Von LA VALETTE SAINT GEORGE (Arch. mikros. Anat. 1867 ; 3 ; 265-273) désigne sous le nom de "Nebenkörper" une formation présente en particulier dans le cytoplasme des spermatides d'Insectes et provenant de la condensation de granules protoplasmiques au voisinage du noyau. O. BUTSCHLI (Ztschr. wissens. Zool. 1871 ; 21 ; 402-415 ; 526-534) nomme "Nebenkern" des condensations cytoplasmiques dont il suit la formation au voisinage du noyau dans des spermatides d'Insectes ou de Crustacés. Par la suite, divers auteurs homologuent le "Nebenkörper" au "Nebenkern" et adoptent le plus souvent ce dernier vocable. F. MEVES (Arch. mikros. Anat. 1900 ; 56 ; 553-606) observe la formation du Nebenkern dans les spermatides de deux Mollusques ; il homologue les granulations qui le constituent aux "Mitochondria" (terme créé par C. BENDA en 1898 pour désigner les granulations protoplasmiques colorables par la laque d'alizarine) et le nomme pour cette raison "Mitochondrienkörper". En définitive, le "Nebenkern" est une condensation de mitochondries dans la spermatide. C'est le sens que lui donne J. ANDRE (1959) dans une étude ultrastructurale de la spermatogénèse d'un Papillon ; c'est aussi l'acception qu'adoptent divers auteurs à sa suite et c'est celle que nous donnons au terme de "Nebenkern" dans ce travail.

Schéma 5.- Evolution du noyau, de la cinétide, du plastidome et du chondriome dans les spermatocytes et les spermatides de Pellia epiphylla.

a)- Spermatocyte ovalisé avec 2 cinétosomes.

b)- Cloisonnement du spermatocyte. Fin de télophase.

c)- Individualisation des spermatides.

d)- Spermatide vue de trois-quarts. Début de contraction du plaste et de fusion des mitochondries.

e)- Spermatide vue par la face externe. Le cinétosome s'est répliqué, la plaquette stratifiée s'est différenciée et le chondriome a donné naissance au Nebenkern.

f)- Spermatide vue de côté ; stade voisin de l'extension maximale de la plaquette stratifiée. Une digitation du Nebenkern a suivi la migration des cinétosomes, l'autre s'est moulée sur le plaste.

g)- Début de régression de la plaquette stratifiée, après individualisation du corps mitochondrial apical et du corps mitochondrial basal ; extension de la languette transitoire.

h)- Etirement de l'extrémité antérieure du noyau. Régression de la plaquette stratifiée ; extension de la languette transitoire (non figurée) ; éloigement des cinétosomes.

i)- Spiralisation du noyau. La plaquette stratifiée a disparu, la languette n'est pas figurée. Accolement du corps basal à la face interne du noyau.

j)- Spermatozoïde. Début de dissociation du corps basal. Le cytoplasme est réduit à une mince pellicule autour du noyau.

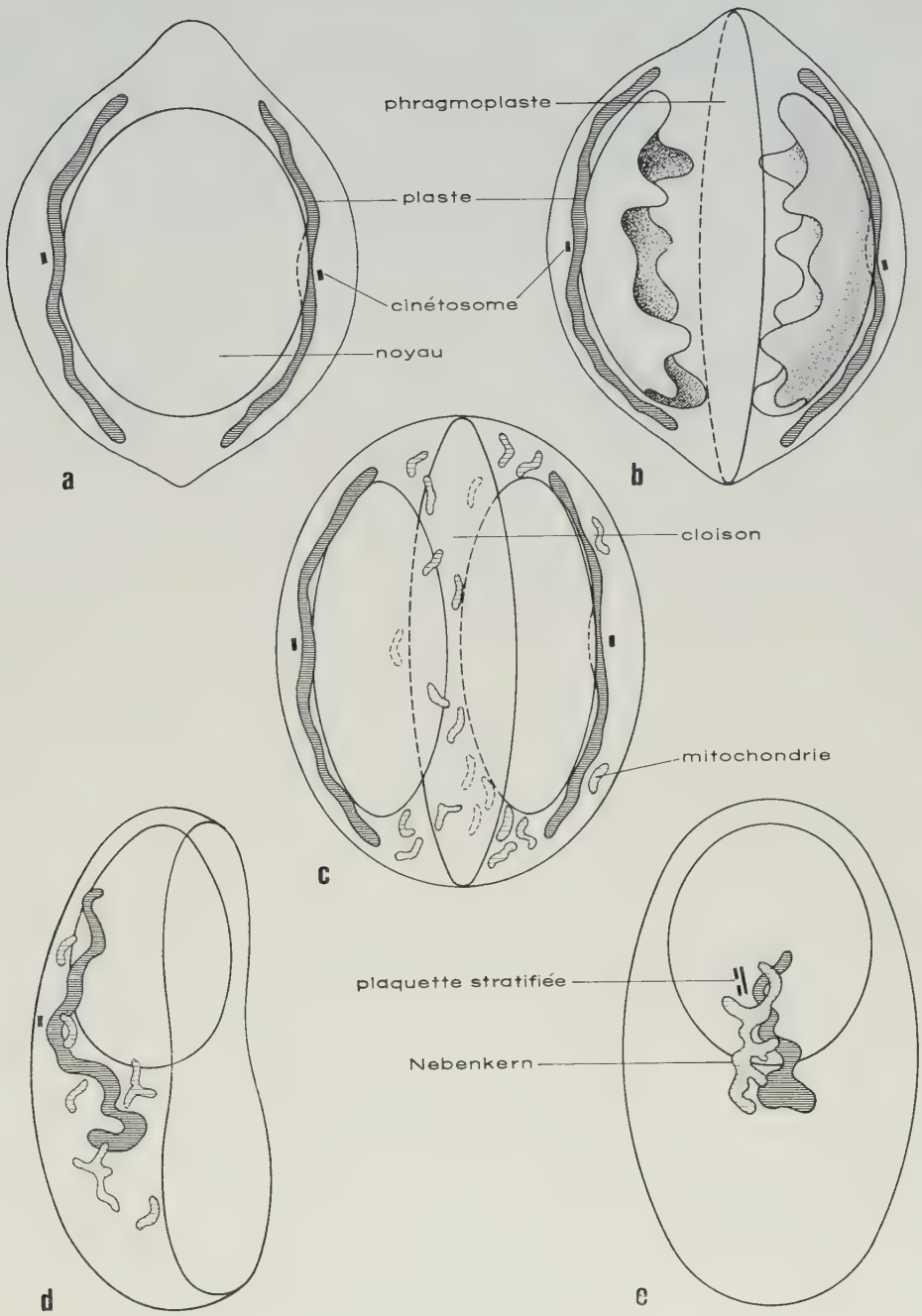

phragmoplaste
plaste
cinétosome
noyau
a
b
cloison
mitochondrie
c
plaquette stratifiée
Nebenkern
d
e

Schéma 5

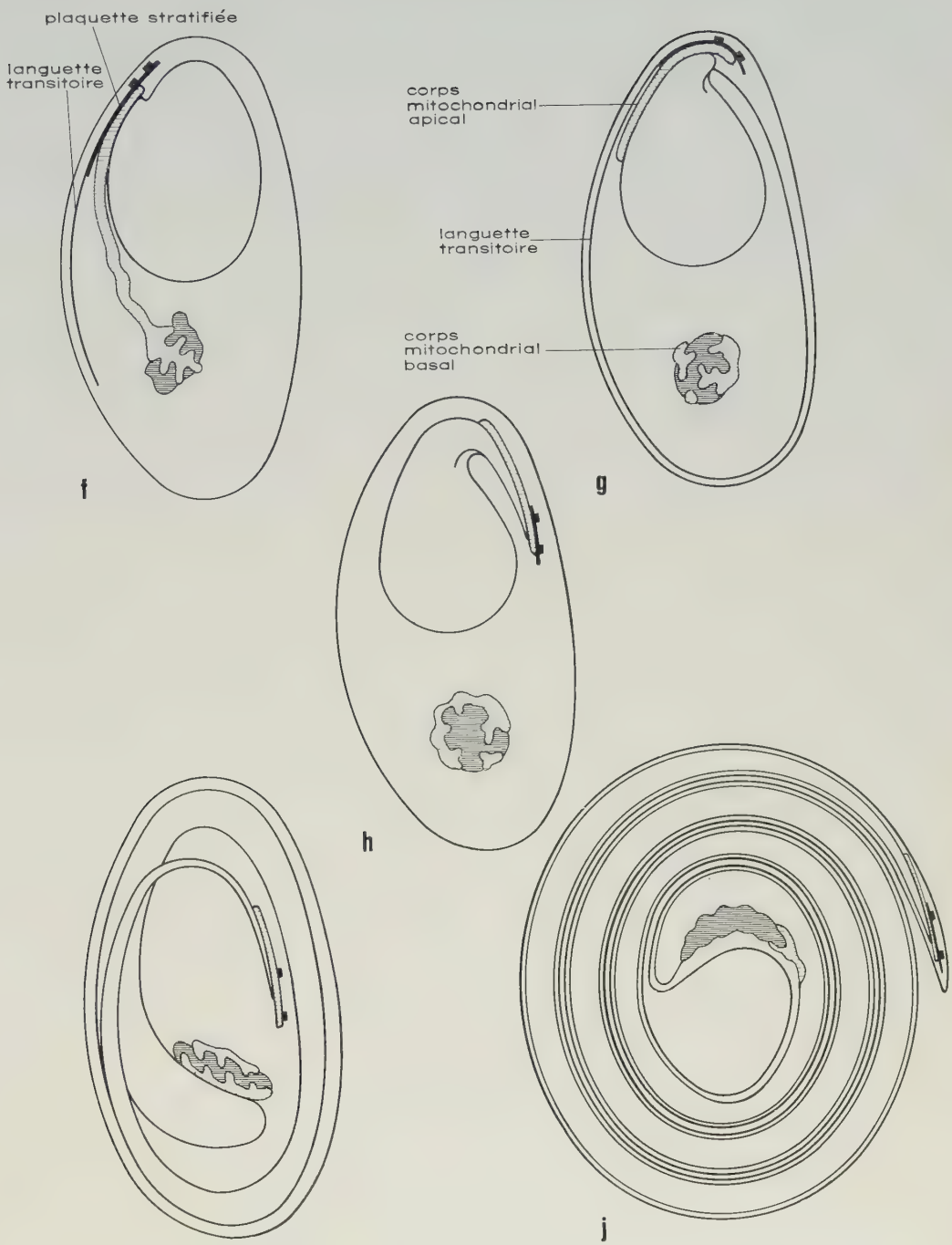

plaquette stratifiée
languette transitoire
f
corps mitochondrial apical
languette transitoire
corps mitochondrial basal
g
h
j

Schéma 5

3°)- Certains lobes du Nebenkern se groupent autour des cinétosomes ; l'un d'eux s'accole à la base de la plaquette en formation.

4°)- Les cinétosomes migrent en direction du pôle nucléaire et la plaquette stratifiée s'allonge (Sch. 5f). Le Nebenkern suit cette progression : il s'étire en une digitation très allongée qui s'accole à la base de la plaquette en cours d'élongation, alors que les lobes de l'autre extrémité demeurent accolés au plaste, dont la forme devient de plus en plus globuleuse. Le noyau se déforme en direction des cinétosomes ; ceux-ci donnent naissance à deux flagelles dont les axonèmes demeurent inclus dans le hyaloplasme sur une longueur variable.

5°)- La rupture du Nebenkern individualise deux éléments mitochondriaux distincts : d'une part, un "corps mitochondrial apical", accolé à la base de la plaquette stratifiée, d'autre part, un "corps mitochondrial basal", accolé au plaste. L'ensemble du plaste et du corps mitochondrial basal est à l'origine du "corps basal". La plaquette stratifiée et le corps mitochondrial apical atteignent à ce stade leurs longueurs maximales. L'ensemble de ces deux structures agrégées et des cinétosomes constitue le "corps apical".

6°)- Les cinétosomes poursuivent leur migration à la périphérie de la cellule, dépassent le pôle antérieur et se dirigent vers la région postérieure (Sch. 5). Le noyau se déforme en une expansion massive qui s'accole au corps apical et s'effile progressivement en suivant la migration de la cinétide en direction postérieure. La plaquette régresse ; ses couches inférieures se désorganisent à partir de la région distale de l'organite, alors que les tubules

de sa couche supérieure s'allongent en direction postérieure. Certains longent la face externe du noyau ; d'autres se prolongent à la périphérie de la cellule, qu'ils encerclent avant de se disposer parallèlement au complexe apical. Nous appelons "languette" l'ensemble des tubules prolongées de la plaquette. Dans la région postérieure, le corps basal est globuleux.

7°)- A un stade ultérieur du développement, le noyau a accompli plus de 2 tours de spire. Les couches inférieures de la plaquette se sont désorganisées et la languette s'étend jusqu'à la partie postérieure du noyau. Le plaste s'est déformé en croissant et le corps mitochondrial basal s'est accolé à la face interne du noyau. Par ailleurs, de nombreuses régressions marquent les débuts de la spermiogénèse.

III - Le noyau :

Dès l'individualisation des spermatides, le noyau retrouve une forme sphérique et une organisation de type interphasique : une partie de la chromatine se disperse dans le nucléoplasme, une autre demeure agglomérée en chromocentres. Le nucléole se reconstitue mais il demeure peu osmiophile et n'atteint pas le volume de celui des noyaux interphasiques des spermatocytes. D'abord central, le noyau prend par la suite une position excentrique. La morphologie nucléaire se modifie au cours de la migration des cinétosomes (voir à ce sujet l'évolution générale décrite ci-dessus et le schéma 5) ; rappelons que le noyau émet une expansion en direction des cinétosomes et se déforme en un bec qui s'étire par la suite en un cône courbe de plus en plus effilé ; la région postérieure du noyau demeure plus massive que sa région antérieure. Les hélices décrites par les noyaux de deux spermatides-soeurs sont de sens contraire.

1°)- La paroi nucléaire :

Les pores nucléaires, fréquents dans les spermatogonies, deviennent extrêmement rares au cours des stades ultérieurs ; dans les spermatides, ils n'ont été reconnus qu'en fin d'évolution, au niveau de la partie postérieure du noyau.

A la rareté des pores nucléaires s'oppose la fréquence des relations de continuité entre les travées du reticulum endoplasmique et la paroi nucléaire. Les connexions entre les feuillets des deux systèmes sont fréquentes chez les spermatocytes ainsi que durant les premiers stades évolutifs des spermatides (fig. 4, pl. 27) et disparaissent au cours de l'étirement du noyau ; elles s'observent après fixation osmiée mais sont plus évidentes après fixation permanganique.

2°)- Fragmentation et disparition du nucléole :

Au moment de la différenciation des longues fibrilles chromatiniennes (voir ci-dessous), le nucléole se fragmente en plusieurs amas granuleux, qui s'effacent dès que les fibrilles s'anastomosent en faisceaux.

3°)- Modification de la structure de la chromatine :

La chromatine s'organise en un grand nombre de courtes fibrilles qui s'allongent progressivement ; leur élongation débute dans la région antérieure du noyau, où les fibrilles apparaissent sinueuses et entremêlées ; elle s'accompagne d'une orientation parallèlement à l'axe de l'expansion lorsque celle-ci s'étire en cône, tandis que de nouvelles unités s'individualisent dans la région nucléaire moyenne. A ce stade, la chromatine n'est pas organisée en fibrilles dans la région postérieure du noyau; chromocentres et fibrilles coexistent dans la région moyenne, alors que dans une région

plus antérieure, la totalité de la chromatine est organisée en longues fibrilles plus ou moins étroitement groupées. Lorsque le noyau a accompli plus de 2 tours de spire, les fibrilles chromatiniennes sont indépendantes dans la région postérieure et groupées en faisceaux dans la région moyenne, tandis que la région antérieure apparaît dépourvue de nucléoplasme. Il apparaît donc que le groupement des fibrilles ainsi que l'élimination du nucléoplasme débutent dans la région antérieure du noyau et progressent en direction postérieure. Avant de décrire les modalités du groupement des fibrilles, il est nécessaire d'évoquer leur structure.

4°)- La structure fine des fibrilles chromatiniennes :

Les fibrilles chromatiniennes qui s'individualisent au cours de la spermatogénèse ont une forme cylindrique et un calibre d'environ 300 A° ; sur micrographies, certaines ont plus de 2 µ de longueur mais celle-ci est certainement plus importante ; l'hétérogénéité de leur structure est visible en coupe transversale (fig. 6, pl. 36). Chaque fibrille se révèle constituée d'une matrice plus osmiophile que le nucléoplasme, dans laquelle sont noyées deux types de sous-unités longitudinales de 30 à 35 A° de diamètre ; une dizaine sont opaques aux électrons et disposées en couronne à la périphérie de la fibrille, à l'exception de l'une d'entre elles qui occupe une position centrale ; huit à dix autres sont claires et réparties autour de l'unité centrale sombre.

5°)- L'individualisation, le groupement et la fusion des fibrilles chromatiniennes :

Des fibrilles courtes de 300 A° de diamètre, comparables aux fibrilles préprophasiques, apparaissent d'abord autour des chromocentres ; elles deviennent plus nombreuses et s'allongent

progressivement. Leur disposition demeure désordonnée dans l'ensemble du volume nucléaire, à l'exception de la région sous-pariétale où un certain nombre d'entre elles s'accolent au feuillet interne de la paroi ; d'abord indépendantes, elles fusionnent progressivement en une couche continue de 300 A° d'épaisseur au cours de l'étirement de la substance nucléaire (fig. 4, 3 et 6, pl. 36). Lorsque la fusion est complète, la disposition caractéristique des sous-unités dans la fibrille n'est plus reconnaissable dans la couche corticale. Le phénomène n'est donc pas limité à une fusion de la matrice des fibrilles, il aboutit à une désorganisation de leur structure ; il débute par leur région antérieure et gagne progressivement leur région postérieure. Il est à noter enfin que la distribution des sous-unités fibrillaires n'est pas homogène dans le cortex : la proportion de sous-unités sombre est plus importante à la périphérie externe, sous la paroi nucléaire.

Les fibrilles qui ne se disposent pas à la périphérie du noyau sont d'abord entrelacées, puis s'orientent progressivement suivant le sens d'étirement ; elles fusionnent en faisceaux qui eux-mêmes se torsadent en écheveaux denses (fig. 1, pl. 33). La structure fibrillaire n'est pas reconnaissable sur les coupes transversales de faisceaux dans lesquels, à la différence du cortex, la distribution des sous-unités semble homogène. Une même fibrille est sinueuse dans sa région postérieure, de moins en moins ondulée puis à peine courbée dans une région moyenne et perd son individualité dans un faisceau. Les faisceaux périphériques fusionnent avec le cortex (pl. 36), puis tous les faisceaux fusionnent entre eux. Sur coupe longitudinale, les sous-unités claires se distinguent plus aisément que les sombres. Les coupes longitudinales non médianes mettent en évidence un enroulement en spirale des sous-unités fibrillaires autour du grand

axe du noyau ; la spire a une pente de 35° environ par rapport à cet axe.

6°)- L'élimination du nucléoplasme :

L'étirement du contenu nucléaire et l'agencement des fibrilles chromatiniennes qui viennent d'être décrits ont pour conséquence le refoulement du nucléoplasme vers la partie postérieure du noyau. Lorsque celui-ci a accompli environ 3 tours de spire, le nucléoplasme a totalement disparu de la région apicale ; il subsiste à l'état d'ilôts fusiformes dans la région moyenne (fig. 1, et 3, pl. 33) et sa quasi totalité est rassemblée dans la région postérieure, où subsistent encore des fibrilles chromatiniennes. La région distale du noyau est alors dilatée et la paroi nucléaire est percée, uniquement dans cette région, de pores d'environ 800 A° de diamètre, groupés en plages (fig. 1 et 2, pl. 37). C'est au niveau de ces plages de pores que s'effectue probablement le passage du nucléoplasme dans le hyaloplasme. Par élimination du nucléoplasme, la région distale du noyau acquiert progressivement un calibre aussi réduit que la région moyenne, puis une forme effilée. Les fibrilles s'y groupent en faisceaux et le noyau, apparemment dépourvu de nucléoplasme, ne s'allonge plus. Cette évolution est achevée lorsque débute la "spermiogénèse".

7°)- Discussion :

A - La paroi nucléaire :

Certains auteurs pensent que le noyau de la spermatide est en partie ou en totalité dépourvu de paroi ; telle est l'opinion de S. SATÔ (1962) chez Conocephalum conicum, de E.J. BONNOT (1967a) chez Bryum capillare et de L. GENEVÈS (1967a) chez Polytrichum formosum. Chez Pellia, une paroi nucléaire continue

est présente durant toute l'évolution de la spermatide ; elle est dépourvue de pores, à l'exception de la région postérieure du noyau, en fin d'évolution des cellules.

B - L'organisation fibrillaire de la chromatine :

La chromatine des spermatides de certains végétaux ou animaux s'organise en fibrilles de calibre voisin de celui des fibrilles chromatiniennes de Pellia. P.P. GRASSÉ et coll. (1956) ont été parmi les premiers à mettre en évidence l'organisation de la chromatine en "fibres chromosomiques" de 100 A° de diamètre dans les spermatides d'un Escargot ; ils identifient ces éléments à des fibrilles élémentaires, fortement spiralisées dans les chromosomes, et qui subissent une déspiralisation dans la spermatide. S. SATÔ (1962) découvre une organisation similaire dans les spermatides de Conocephalum conicum ; pour cet auteur, les fibrilles chromatiniennes sont les fibrilles élémentaires des chromosomes, qui se placent les uns à la suite des autres dans le noyau de la spermatide. Par la suite, la conception de P.P. GRASSÉ et coll. ne reçoit pas l'agrément de tous les chercheurs, mais aucune preuve irréfutable ne peut lui être opposée. Notre étude de Pellia ne nous permet pas de prendre position à ce sujet ; nous affirmons seulement que la différenciation des fibrilles n'est pas précédée de celle de chromosomes et donc que le noyau du spermatozoïde ne résulte pas de la fusion d'éléments de chromosomes alignés les uns à la suite des autres.

L'organisation de la chromatine en fibrilles ressort de toutes les études pratiquées sur la spermatogénèse des Bryophytes, et en particulier celle des Mousses : Polytrichum juniperinum (D.J. PAOLILLO et coll., 1968), Polytrichum formosum (L. GENEVÈS, 1967a, qui nomme "travées osmiophiles" les fibrilles chromatiniennes), Bryum capillare

(E.J. BONNOT, 1967a). Ce type d'organisation structurale n'est pas un fait général. Ainsi, dans la spermatide d'un Criquet, J.R. GIBBONS et J.R.G. BRADFIELD (1957) mettent en évidence une organisation lamellaire puis tubulaire, de la chromatine ; chez un Rotifère, J.K. KOEHLER (1965) montre que le noyau de la spermatide ne présente aucune modification de la chromatine.

C - Relation possible entre la structure des fibrilles chromatiniennes et leur composition chimique :

Certaines bactéries ont révélé l'existence de fibrilles osmiophiles de 25 A° de diamètre, chaque fibrille représentant un seul filament d' A D N refermé sur lui-même et pelotonné. D'autre part, il a été prouvé que la chromatine des spermatozoïdes d'Escargot est essentiellement constituée d' A D N et de protamines (A. BERKALOFF et coll. 1967, p. 180).

La similitude de calibre suggère que les sous-unités sombres des fibres chromatiniennes de Pellia pourraient être d'une nature très voisine de celle des fibrilles bactériennes. Dans cette hypothèse, les protamines seraient représentées par l'un des deux autres constituants de la fibrille : la matrice ou les unités claires.

D - Relation entre les fibrilles chromatiniennes et les "chromonemas" :

Dans une étude en microscopie photonique de la spermatogénèse chez Marchantia polymorpha, Y. SINOIR observe l'édification d'une structure filamenteuse dans le noyau en forme de croissant. J. EYMÉ chez une Mousse (Catharinea undulata) voit apparaître au même stade "de fins filaments ... qui constituent ensuite par coalescence des filaments longitudinaux plus importants" (thèse p. 125 et fig. 18, 19,20, pl. XV) ; il assimile ces fins filaments aux "chromonemas" (p. 129).

Les filaments nucléaires décrits en microscopie photonique ne peuvent pas être rapportés aux fibrilles chromatiniennes dont le diamètre est inférieur au pouvoir de résolution du microscope ordinaire. Ces chercheurs ont vraisemblablement observé des faisceaux de fibrilles qui atteignent 0,2 à 0,5 u de calibre.

8°)- Conclusions :

Il a été mis en évidence au cours de la spermatogénèse de Pellia une organisation de la chromatine en fibrilles chromatiniennes de 300 A° de calibre et de structure hétérogène. L'élongation de ces éléments est progressive. Certaines fibrilles se localisent à la périphérie du noyau et constituent, après fusion, un cortex à zone externe riche en sous-unités opaques aux électrons. Les autres s'orientent progressivement, puis fusionnent en faisceaux de plus en plus volumineux. La fusion débute dans la région antérieure de la fibrille et se poursuit en direction postérieure ; elle entraîne une modification de la disposition des sous-unités fibrillaires. Ce processus va de pair avec un refoulement progressif du nucléoplasme, qui s'accumule dans la région postérieure du noyau ; en fin d'évolution, des pores groupés en plusieurs plages se différencient au niveau de cette région et semblent faciliter le passage du nucléoplasme dans le hyaloplasme.

IV - Le complexe apical :

Nous désignons sous le terme de "complexe apical" un ensemble d'organites non homologues qui demeurent agrégés dans la région antérieure de la spermatide. Ce complexe est

essentiellement constitué par la région antérieure du noyau, le corps mitochondrial apical, la plaquette stratifiée ainsi que les cinétosomes et les portions axonématiques des flagelles inclus dans le cytoplasme. Les travaux effectués en microscopie photonique avaient permis de distinguer dans l'ensemble de ces structures juxtaposées deux constituants essentiels : d'une part, le noyau, mis en évidence grâce à ses propriétés Feulgen positives, et d'autre part, le "corps apical" ou "blépharoplaste", dont la microscopie électronique a révélé la complexité.

Il est nécessaire d'orienter les électromicrographies afin que les constituants des spermatides soient observés dans des positions invariables. Par convention, celles-ci sont orientées de telle façon que la partie antérieure du noyau soit dirigée vers l'observateur. Les coupes du noyau apparaissent alors à droite de la coupe du corps mitochondrial apical dans les spermatides évoluées et, d'autre part, la coupe du cinétosome antérieur apparaît à droite de celle du cinétosome postérieur.

L'évolution générale du complexe apical a été décrite au début de ce chapitre (p. 170). Nous précisons d'abord la structure de chacun des constituants de cet ensemble avant d'envisager les résultats obtenus par d'autres chercheurs sur diverses espèces.

1°)- La région antérieure du noyau :

Dans les jeunes spermatides, le noyau émet une expansion massive en direction de la plaquette stratifiée (Sch. 5f et 9a), dont il demeure séparé par le corps mitochondrial jusqu'à ce que la plaquette ait atteint son extension maximale. Ultérieurement, les couches inférieures de la plaquette se désorganisent. La désorganisation débute dans la région postérieure de l'organite et gagne progressivement sa région antérieure. Le noyau se déforme en direction des tubules de la couche supérieure de la

plaquette et l'expansion nucléaire prend la place des couches désorganisées (voir par exemple fig. 3, pl. 35). Il se constitue ainsi à la surface du noyau une sorte de moulure à sommet plat (voir Sch. 9a) qui s'allonge progressivement en direction des cinétosomes par suite de la disparition des couches inférieures de la plaquette stratifiée (voir étude de la languette). La région apicale du noyau accompagne la migration des cinétosomes et se déforme en un cône courbe de plus en plus effilé, qui se dispose à la droite du corps mitochondrial par suite du glissement de celui-ci sur le côté gauche de la languette (Sch. 5h et 9b). Ce cône est dépourvu de nucléoplasme et les fibrilles chromatiniennes y sont étroitement associées. Il est à remarquer qu'au cours de l'évolution du complexe apical, l'extrémité antérieure du noyau demeure constamment en retrait de l'extrémité de la plaquette stratifiée ou de la languette et de celle du corps mitochondrial apical (voir Sch. 5 et 9).

2°)- Le corps mitochondrial apical :

Peu après l'individualisation de la jeune spermatide, le noyau prend une position excentrique et tous les organites cytoplasmiques se groupent dans la région opposée. Les mitochondries fusionnent en un seul "Nebenkern", irrégulièrement lobé, avant la différenciation de l'ébauche de la plaquette stratifiée (voir évolution générale du complexe apical). Ce Nebenkern se digite particulièrement au voisinage des cinétosomes et l'une de ces expansions s'accole progressivement à la base de la plaquette stratifiée ; elle s'allonge en même temps que celle-ci, son calibre se régularise et se réduit. Enfin, une rupture individualise le corps mitochondrial apical, qui atteint à ce moment son maximum d'extension ; il mesure alors environ 7 µ de longueur et 0,3 à 0,4 µ de diamètre ; il apparaît largement "vacuolisé"

(E. HEITZ, 1959) car les crêtes sont dilatées par une "pseudo-matrice" claire (J. ANDRÉ, 1962).

Le corps mitochondrial apical suit la migration des cinétosomes et demeure accolé à la base de la plaquette stratifiée tant que ses couches inférieures persistent, puis à la base de la languette lorsque la plaquette régresse. L'accolement est parfait dans certaines régions, alors que dans d'autres il subsiste un espace d'importance variable entre la membrane externe du corps mitochondrial et la base de la plaquette. D'autre part, le calibre du corps mitochondrial se réduit progressivement à 0,1 µ environ par diminution des "espaces intracristaux" (J.ANDRÉ, 1962). Les crêtes se laminent et s'orientent suivant le grand axe de l'organite ; leur abouchement à la membrane mitochondriale interne n'est visible que sur un petit nombre de coupes, de sorte que la section du corps mitochondrial apparaît le plus souvent comme une enclave sombre sillonnée de plages allongées claires (fig. 2, 3, 4, pl. 36). Leur lamination s'accompagne d'une réduction de l'espace entre les deux membranes constituant la paroi du corps mitochondrial (comparer les fig. 1, pl. 36 par exemple) ; bien que souvent très rapprochées, ces deux membranes demeurent distinctes. Il est à noter que cette évolution structurale est semblable à celle observée au niveau du corps mitochondrial basal.

Au cours de la régression des couches inférieures de la plaquette, le corps mitochondrial glisse sur la gauche de la languette (pl. 36).

3°)- Les cinétosomes et les flagelles :

Chez certaines spermatides, il n'a été observé qu'un seul cinétosome à structure ennéanème typique (fig. 6, pl. 33) ; chez d'autres, deux cinétosomes sont accompagnés d'une ébauche

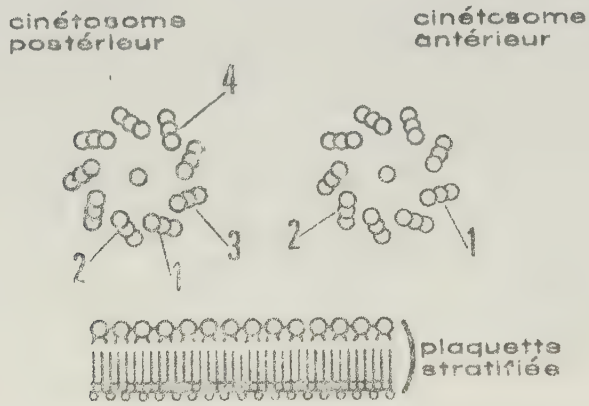
de plaquette stratifiée. L'unique cinétosome de la très jeune spermatide s'est donc répliqué lorsque la plaquette stratifiée se différencie ; une coupe longitudinale de la plaquette et de la cinétide montre à ce stade deux cinétosomes disposés l'un derrière l'autre (fig. 1, pl. 32) ; l'un est parallèle à la partie supérieure de l'ébauche, l'autre n'est pas dans le prolongement du premier. Les deux cinétosomes sont donc situés à des niveaux différents, ce qui explique que leurs coupes transversales n'apparaissent pas sur la même section. Les coupes transversales des plus jeunes ébauches de la plaquette qui ont été observées apparaissent en effet surmontées d'un seul cinétosome (fig. 5, pl. 33).

A un stade ultérieur du développement de la spermatide, la plaquette stratifiée apparaît, en coupe transversale, surmontée à certains niveaux par des triplets appartenant à un seul cinétosome (fig. 1, pl. 34), à d'autres niveaux par deux groupes de triplets appartenant à deux cinétosomes (fig. 3, pl. 34) ; en coupe longitudinale, un seul cinétosome est en général visible. Ces divers aspects trouvent une explication dans la structure de chaque cinétosome et dans leur disposition relative.

A - Structure des cinétosomes :

Chaque cinétosome est constitué de 9 triplets imbriqués de la façon déjà décrite dans les coupes de spermatides vues depuis le pôle apical en direction du pôle basal. Son diamètre est de 1,8 µ, quel que soit le niveau de la coupe. Seul le tubule interne de chaque triplet a une forme cylindrique ; le tubule médian a une portion de paroi commune avec l'interne et le tubule externe une portion commune avec le médian, de sorte que la coupe de ces deux tubules

apparaît comme deux cercles imbriqués. Le tubule interne a un diamètre de 250 A° environ. La longueur des 3 tubules d'un même triplet décroît de l'élément externe à l'interne ; le tubule externe est légèrement plus long que les deux autres, puisque certaines coupes ne montrent que lui ; d'autres coupes montrent le tubule externe et le bubule médian, qui a donc une longueur intermédiaire ; le tubule interne est le plus court. Les triplets sont plus fortement inclinés dans la région postérieure, où ils forment une couronne (fig. 6, pl. 33 et fig. 3, pl. 34). Ils sont de longueur inégale et certains se prolongent plus antérieurement que d'autres ; le schéma suivant résume les résultats de nos observations à ce sujet :



Dans le cinétosome antérieur, le plus long triplet (1) est un triplet latéral ; le triplet (2) est un peu plus court; les autres triplets semblent avoir des longueurs voisines et apparaissent en groupe. Dans le cinétosome postérieur (voir Sch. 6), les 3 triplets basaux sont les plus longs, tous les autres sont nettement moins longs. Puisque les sections transversales d'ébauches de la plaquette stratifiée ne montrent qu'un seul cinétosome dont la constitution en 9 triplets

est complète, c'est que les triplets sont tous courts à ce stade et donc que l'élongation de certains d'entre eux ne s'effectue qu'au cours de l'allongement de la plaquette.

L'axe du cinétosome est occupé par un élément allongé et cylindrique de 250 A° de diamètre, qui n'avait pas été mis en évidence dans les cinétosomes des spermatocytes ; sa densité aux électrons est variable (comparer par ex. la fig. 5, pl. 33 et la coupe du cinétosome antérieur de la fig. 3 pl. 34). Cet élément axial s'étend depuis les plus longs triplets jusqu'à l'extrémité opposée du cinétosome. Les triplets sont noyés dans une matrice dense et granuleuse qui n'est jamais accolée à l'élément axial : dans la partie antérieure du cinétosome, la matrice délimite une couronne claire autour de lui (cinétosome postérieur de la fig. 3, pl. 34) ; dans une région moyenne, la matrice réserve des zones claires dont la forme évoque en coupe une étoile à 3 ou, plus souvent, 5 branches (fig. 5, pl. 33) ; dans une région plus postérieure, les zones claires sont disposées comme les rayons d'une roue (fig. 6, pl. 33).

B - Disposition relative des deux cinétosomes sur la plaquette stratifiée allongée :

a)- Les deux cinétosomes s'éloignent progressivement l'un de l'autre au cours de l'allongement de la plaquette, puis de sa régression.

- Durant les tout premiers stades de la formation de la plaquette stratifiée, les deux cinétosomes sont situés l'un derrière l'autre et très proches l'un de l'autre (fig. 1, pl. 32) ;

- Lorsque la plaquette stratifiée a atteint son exten-

Schéma 6 - Reconstitution schématique du cinétosome postérieur de la spermatide de Pellia epiphylla. Les 3 triplets basaux sont les plus longs ; le tubule externe de chaque triplet, ainsi que l'élément axial, s'interrompent au niveau de la région postérieure du cinétosome.

Schéma 7 - Formation et régression de la plaquette stratifiée des spermatides de Pellia epiphylla. Coupes transversales de la plaquette stratifiée au niveau des 3 triplets les plus longs du cinétosome postérieur chez différentes spermatides.

a à c - formation de la plaquette stratifiée, dont la largeur s'accroît progressivement. Aux stades c et d, l'extension des couches inférieures de la plaquette est plus importante que celle de la couche supérieure (voir aussi schéma 8a).

f - un stade de la régression de la plaquette stratifiée. Noter la disparition des couches inférieures de cette formation et la présence de la moulure nucléaire ; les tubules dépourvus de carène et de bande de liaison constituent la languette transitoire épinucléaire.

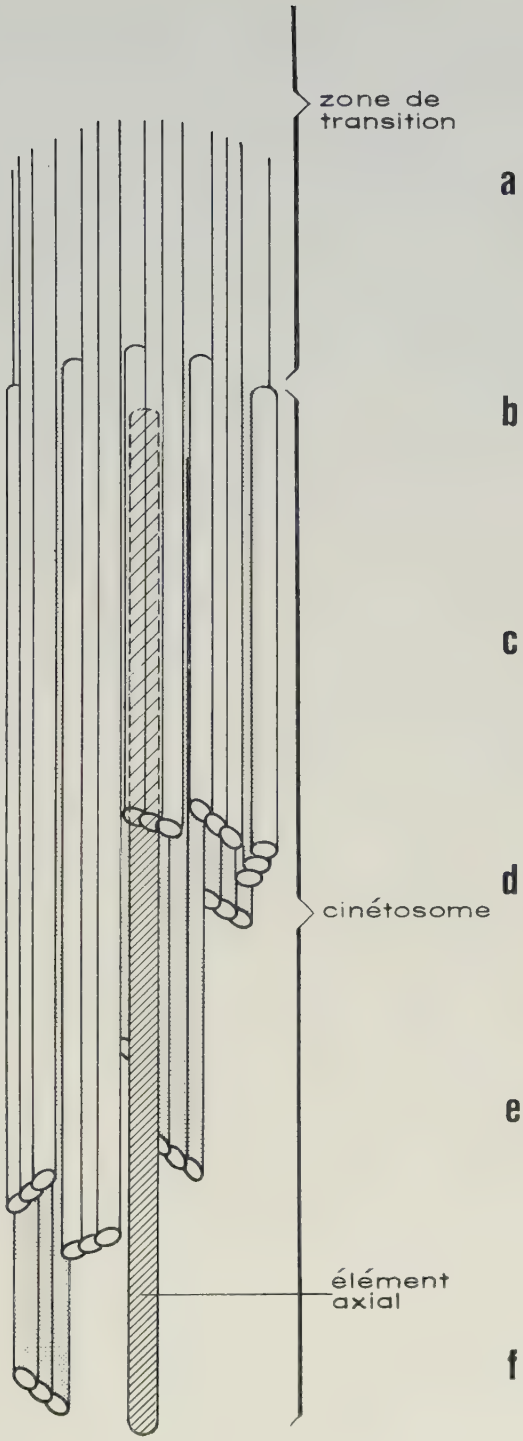


Schéma 6

Schéma 7

sion maximale, l'extrémité du triplet le plus long du cinétosome antérieur est située en avant de l'extrémité du triplet le plus long du cinétosome postérieur. La région postérieure du cinétosome antérieur est au même niveau que deux triplets du cinétosome postérieur. Lorsque la coupe montre le 3e triplet du cinétosome postérieur, elle ne montre plus le cinétosome antérieur, qui diverge fortement et se prolonge hors de la cellule par un axonème. De ces deux dernières observations, on peut déduire que la région moyenne, montrant 9 triplets, du cinétosome antérieur, est située nettement en avant de la région correspondante du second cinétosome.

- Lorsque le noyau a accompli plus d'un tour de spire, la régression de la plaquette est complète et les deux cinétosomes sont encore plus éloignés l'un de l'autre : l'extrémité antérieure du plus long triplet du cinétosome postérieur est alors en arrière de la région postérieure du cinétosome antérieur.

b)- Les axes des deux cinétosomes convergent légèrement vers l'avant. L'axe du cinétosome antérieur s'éloigne par la droite de l'axe des tubules de la couche supérieure de la plaquette stratifiée, de sorte que les plus longs triplets sont situés au-dessus des tubules médians de la plaquette et que la partie postérieure du cinétosome est située à la droite du dernier tubule. L'axe du cinétosome postérieur est parallèle aux axes des tubules de la couche supérieure de la plaquette et ce cinétosome est situé au-dessus des tubules les plus à gauche. La partie antérieure des triplets les plus longs de chaque cinétosome est séparée des tubules de la plaquette par 200 à 400 A° ; cette distance est d'environ 1000 A° dans la région postérieure des cinétosomes : ceux-ci s'éloignent donc de la plaquette stratifiée.

C - Passage à la structure flagellaire :

Le cinétosome se prolonge par une "zone de transition" (I.R. GIBBONS et A.V. GRIMSTONE, 1960) dans laquelle tous les éléments cinétosomiens ne se retrouvent pas. L'élément axial du cinétosome et le tubule externe de chaque triplet ne se poursuivent pas au delà du niveau qui marque l'extrémité postérieure de l'organite, de sorte qu'une coupe dans la région antérieure de la zone de transition se présente comme une couronne de 9 doublets autour d'une plage axiale claire (fig. 7, pl. 33 et fig. 5, pl. 36) ; dans une région plus postérieure, des lames relient les doublets de 2 en 2, dessinant un "motif étoilé" ("stellate pattern" des auteurs anglo-saxons) - voir fig.4, pl. 36.

D - Structure du flagelle :

La zone de transition se poursuit par l'axonème du flagelle, qui a chez Pellia une structure typique (fig. 8, pl. 33) : 9 doublets sont disposés régulièrement en couronne autour de 2 tubules axiaux. Des deux tubules qui composent un doublet, un seul apparaît cylindrique ; le second a le plus souvent une portion de paroi commune. Cette observation est un argument de plus en faveur de l'interruption du tubule externe au niveau de la partie postérieure du cinétosome : le tubule interne de chaque triplet se poursuit dans le tubule cylindrique d'un doublet et le tubule médian du triplet se poursuit dans le second tubule du doublet. Des expansions denses sont visibles sur les deux tubules de chaque doublet, mais elles sont plus fréquentes sur le tubule cylindrique.

Les 2 tubules axiaux sont le plus souvent indépendants l'un de l'autre ; lorsqu'ils sont rapprochés, leur contour demeure cylindrique. La paire de tubules axiaux est noyée dans un cordon d'une substance moins dense aux électrons que la paroi

des tubules ; ce cordon est entouré d'une gaine dans laquelle se différencient souvent 9 zones denses, une vis-à-vis de chaque doublet périphérique ; chaque zone est reliée à la paroi commune d'un doublet par une lame dense, le rayon d' AFZELIUS. Enfin, l'axonème est limité par une membrane tripartité. Le diamètre de la couronne de doublets est d'environ 0,2 µ ; celui du flagelle est d'environ 0,26 µ.

4°)- La plaquette stratifiée :

A - Nomenclature :

Nous appelons "plaquette stratifiée" un ensemble structural complexe que d'autres auteurs ont désigné par diverses expressions : Dreiergruppe (E. HEITZ, 1959), Vierergruppe (Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER, 1967), blépharoplaste (C.N. SUN, 1963 ; Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER, 1968), multilayered structure (D.J. PAOLILLO et coll., 1968), complexe fibrillaire (E.J. BONNOT, 1967a).

B - Formation et évolution :

a)- Chez Pellia, la plaquette stratifiée se différencie sous deux cinétosomes, à la périphérie de la cellule et dans sa région médiane, au voisinage du Nebenkern et du plaste. En coupe longitudinale, l'ébauche, reconnaissable à sa structure périodique, apparaît courte (fig. 1, pl. 32). La coupe transversale d'un cinétosome a été observée entre le plasmalemme et 4 tubules : cette observation suggère que l'édification de la plaquette débute par la différenciation sous les cinétosomes d'un petit nombre de tubules disposés parallèlement les uns aux autres. A un stade ultérieur, 3 strates se distinguent sous la couche de microtubules. Des coupes pratiquées au même niveau dans diverses spermatides

permettent de reconstituer en partie la genèse de cette formation (Sch. 7). La plaquette s'élargit progressivement sur la droite ; lorsque sa couche supérieure comporte 9 tubules (Sch. 7c), les couches inférieures ont une extension sur la droite plus importante que celle de la couche supérieure (fig. 5, pl. 33). L'existence d'un tubule libre sur la droite de la plaquette en cours d'édification a été exceptionnellement observée. De plus, chez tous les jeunes stades de la formation de la plaquette, une masse granuleuse dense se trouve au voisinage immédiat de la partie droite de la plaquette stratifiée (fig. 5, pl. 33). De nouveaux tubules se différencient donc à la droite des premiers et de nouvelles couches inférieures s'organisent à l'arrière de celles qui existent déjà, de sorte que la plaquette stratifiée s'accroît en largeur et surtout en longueur. Par ailleurs, certains triplets des cinétosomes s'allongent.

b)- Lorsque la plaquette a atteint son maximum d'extension, les 4 couches ont la même largeur et la couche supérieure est constituée de 15 microtubules (fig. 1, pl. 34). La plaquette stratifiée est alors un ensemble structural qui mesure au moins 6 µ de longueur et 1100 A° environ d'épaisseur ; sa partie antérieure s'étend en avant du noyau et du corps mitochondrial apical (fig. 4, pl. 34, fig. 2, pl. 35). Le cytoplasme qui enveloppe la région antérieure de la plaquette est particulièrement dense et montre de très nombreuses fibrilles ou lames (fig. 2, pl. 35). L'absence ou la rareté de ces formations fibrillaires ou laminaires dans d'autres régions de la cellule suggère que les cinétosomes peuvent être les inducteurs de ces différenciations cytoplasmiques.

c)- Lorsque les cinétosomes ont dépassé l'axe de la cellule et gagnent sa région postérieure, les 3 strates inférieures de la plaquette se désorganisent progressivement. Cette désorganisation débute par la région distale de l'organite et

s'effectue donc en sens inverse de celui de la formation des couches. Les formations fibrillaires ou laminaires du cytoplasme régressent en même temps que les couches inférieures de la plaquette stratifiée.

d)- Lorsque le noyau a accompli moins d'un tour de spire, la désorganisation des couches inférieures de la plaquette stratifiée est complète. Celle-ci est alors réduite à la couche de microtubules ; des strates inférieures, il ne subsiste qu'une masse non structurée, dense aux électrons, à l'avant de l'organite, entre son extrémité proximale et celle du corps mitochondrial (fig. 9b).

e)- La plaquette stratifiée est donc une structure transitoire qui atteint son maximum d'extension au moment de l'individualisation du corps mitochondrial apical et dont la régression débute dès l'étirement de la région antérieure du noyau.

C - Structure au moment de son extension maximale :

Dans la plaquette, 4 couches peuvent être distinguées ; elles sont repérées de S1 (couche supérieure) à S4 ; les strates S1 et S2 sont séparées par une zone claire.

a)- La couche supérieure S1 est constituée d'une série de 15 tubules parallèles, reliés entre eux (fig. 1, pl. 34) ; chacun d'eux porte une carène à sa partie inférieure. Les diamètres externe et interne de chaque tubule sont respectivement 250 A° et 130 à 140 A° ; deux tubules voisins sont reliés par une bande de 60 A° de largeur et 50 A° d'épaisseur. Une carène de 100 A° de hauteur, à région centrale déprimée, est appendue à la base de chaque tubule et repose sur la zone claire. Cette carène apparaît sur les coupes perpendiculaires aux tubules sous forme de 2 appendices den-

ses. Tubules, bande de liaison et carène montrent des sous-unités très denses aux électrons, noyées dans une matrice dense. La couche S1 repose entièrement sur la couche S2.

b)- Une zone claire, appelée "zone de transition" par Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER (1967), sépare les strates S1 et S2. Cette zone de 50 A° de hauteur ne montre sur nos coupes aucune structure significative.

c)- Une couche S2 de 400 A° de hauteur est constituée de la juxtaposition de plans verticaux sombres de 60 A° environ d'épaisseur, séparés par un espace clair d'environ 80 A° de largeur. La base des plans verticaux repose sur un plan horizontal. Sur les coupes perpendiculaires à la couche S1, les plans de la couche S2 sont mal définis (fig. 1, pl. 34 par exemple) ; certaines coupes obliques montrent les plans S2 avec le maximum de netteté (fig. 2, pl. 34) ; enfin, sur les coupes parallèles aux tubules S1, les plans S2 apparaissent inclinés d'avant en arrière et forment avec la direction des tubules S1 un angle d'environ 55° (fig. 4, pl. 34). Ces divers aspects de coupes transversales, effectuées suivant la hauteur de la plaquette, sont explicités par l'observation de coupes tangentielles, parallèles à la couche S1 : sur de telles coupes (par exemple, fig. 5, pl. 35), il est en effet visible que les plans S2 forment avec les tubules S1 un angle d'environ 45°. Les plans sombres ont donc une largeur minimale dans les coupes transversales de la plaquette, inclinées à 45° sur l'axe des tubules S1 ; par suite, la structure périodique de la couche S2 est alors définie au mieux.

Certaines coupes longitudinales de la plaquette stratifiée montrent que la couche S2 mesure au moins 6 µ de longueur ; puisque chaque micron de la couche S2 contient 70 à 71 plans, la strate est composée de plus de 420 plans lorsque la plaquette

a atteint son maximum d'extension. La partie antérieure de la plaquette mesure jusqu'à 0,45 u de largeur ; sa partie postérieure se termine en biseau et mesure 600 à 900 A° de largeur. Les couches inférieures de la plaquette stratifiée ont donc la forme d'une plaque de 700 A° de hauteur, de plus de 6 µ de longueur, arrondie en raquette et large de 0,45 µ dans sa partie antérieure, progressivement atténuée en biseau dans sa partie postérieure.

d)- La couche S3 mesure environ 120 A° de hauteur ; elle est limitée par deux plans horizontaux qui n'apparaissent clairement que sur les coupes longitudinales de la plaquette, comme la fig. 3, pl. 34 par exemple. Sa structure verticale n'est bien définie que dans les coupes qui montrent les plans S2 avec le maximum de netteté (fig. 2, pl. 34) : c'est donc que les cloisons verticales de la couche S3 forment aussi un angle de 45° avec les tubules S1. Par ailleurs, ces cloisons sont perpendiculaires à la couche S1 et non inclinées d'avant en arrière comme les plans S2 : ce fait est assez net dans la zone soulignée par l'accolade (fig. 4, pl. 34). Plans horizontaux et cloisons verticales sont plus fins que les plans S2 : leur épaisseur est estimée à 40 A° environ.

e)- La couche S4 mesure 150 à 180 A° de hauteur ; ses limites apparaissent nettement sur toutes les coupes de la plaquette, quelle que soit leur orientation, mais par contre sa structure n'est clairement définie sur aucune de nos micrographies.

D - Régression :

Ce phénomène se caractérise par une série de désorganisations qui affectent les couches S2, S3 et S4, les carènes des tubules ainsi que les bandes de liaison intertubulaires.

Finalement, seuls persistent les tubules de la couche S1. La régression de la plaquette s'accompagne d'un éloignement des cinétosomes (voir ci-dessus) et d'une extension vers l'avant de la moulure nucléaire (voir étude de la languette).

E - Conclusions : évolution ultrastructurale du complexe apical chez Pellia epiphylla.

Il résulte de nos observations sur la spermatide de Pellia epiphylla que le complexe apical s'édifie progressivement dans la région médiane de la spermatide au voisinage de deux cinétosomes à triplets courts. La migration des cinétosomes en direction du pôle nucléaire de la cellule s'accompagne de l'élongation de certains de leurs triplets ainsi que de celle de la plaquette stratifiée, alors qu'une digitation du Nebenkern résultant de la fusion de la totalité des mitochondries de la cellule s'accole progressivement à la base de la plaquette en cours d'édification. Une rupture de ce Nebenkern individualise deux fractions et en particulier le corps mitochondrial apical. L'agrégation de cet organite avec les cinétosomes et la plaquette stratifiée constitue le "corps apical", équivalent réel du "blépharoplaste" d'anciens auteurs. La plaquette atteint son maximum d'extension au moment de l'individualisation du corps mitochondrial apical ; 4 couches peuvent alors y être distinguées : la couche supérieure est constituée de 15 microtubules, les deux strates intermédiaires ont une structure périodique, la structure de la couche inférieure n'a pas été reconnue. La plaquette est une formation transitoire dont la régression s'effectue par désorganisation des 3 strates inférieures ; lorsque le noyau a accompli moins d'un tour de spire, il ne persiste de cette structure complexe que les tubules de la couche S1, dépourvus de carène et de bande de liaison.

F - Discussion :

La structure et certaines phases de la formation et de l'évolution du complexe apical sont connues dans les spermatides de diverses espèces de Bryophytes ; par ailleurs, des ensembles structuraux analogues au complexe apical des Bryophytes existent dans les spermatides des Characées, des Ptéridophytes et des Préphanérogames.

a)- Le complexe apical chez les Bryophytes :

Il résulte de l'agrégation des mêmes organites que celui de Pellia epiphylla.

1 - Le noyau :

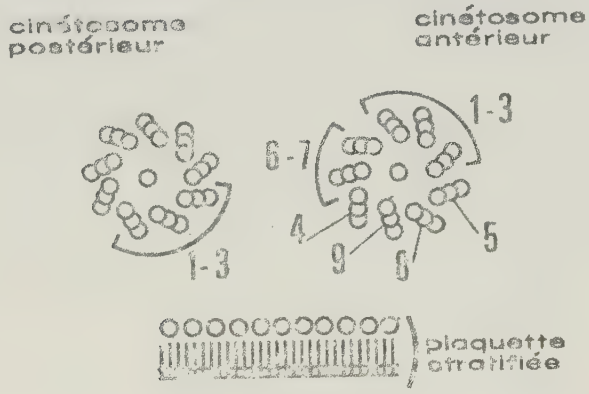
D.J. PAOLILLO et coll. (1968) observent chez Polytrichum juniperinum que la face interne du noyau devient concave et que sa région antérieure se déforme en une expansion d'abord massive puis de plus en plus effilée ; par ailleurs, l'effilement s'accompagne de la différenciation de fibrilles chromatiniennes.

2 - Le Nebenkern et le corps mitochondrial apical :

Les auteurs qui se sont attaché à élucider la structure de la plaquette stratifiée chez les Hépatiques n'ont pas mentionné l'évolution du corps mitochondrial apical, connue chez les Mousses grâce aux recherches de E.J. BONNOT (1967a) sur Bryum capillare et de D.J. PAOLILLO et coll. (1968) sur Polytrichum juniperinum. Chez ces deux espèces, comme chez Pellia, la totalité des mitochondries de la spermatide fusionnent en un Nebenkern dont l'extrémité antérieure s'accole à la plaquette stratifiée, puis s'isole.

3 - Le cinétosome :

La longueur inégale des triplets constituant les cinétosomes évolués ressort de toutes les recherches pratiquées sur le corps apical de la spermatide des Bryophytes ; elle est notée par Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER (1968) chez Marchantia polymorpha et par D.J. PAOLILLO et coll. (1968a) chez Polytrichum juniperinum ; d'après les indications de ces derniers auteurs et celles de la figure 7 de leur article, l'apparition des triplets se fait dans l'ordre suivant, chez la Mousse étudiée :



Les positions des triplets les plus longs dans chaque cinétosome paraissent bien déterminées dans chaque espèce, mais sont variables de l'une à l'autre. Chez Marchantia polymorpha, Polytrichum juniperinum et Pellia epiphylla, les 3 triplets basaux du centriole postérieur sont les plus longs. Chez Marchantia polymorpha, le cinétosome postérieur est plus long que l'antérieur. Enfin, toutes les observations effectuées jusqu'ici sur les Bryophytes ont révélé la présence d'un élément axial dans le cinétosome et une structure identique de la région de transition. La longueur inégale des triplets dans chaque cinétosome paraît être un fait

exceptionnel qui ne semble connu jusqu'ici que chez les Bryophytes. La présence d'un élément axial n'a été observée que dans les cinétosomes des spermatides de Bryophytes ou de Ptéridophytes ainsi que dans ceux de diverses Algues ou de certains Protozoaires ; cet organite est absent des cinétosomes d'autres Protozoaires et des centrioles de cellules animales. Par ailleurs, des structures telles que les massules en relation avec le centriole chez certaines cellules animales ou le diaphragme des cinétosomes de nombreuses Algues ou de certains Protozoaires, n'existent pas chez les Bryophytes étudiés à ce jour.

4 - La plaquette stratifiée :

Il nous semble nécessaire de rendre compte plus en détail des conceptions de divers auteurs sur la structure de la plaquette stratifiée et ses rapports avec les cinétosomes.

Les premières recherches sur ce sujet sont celles de E. HEITZ (1959) chez 4 Hépatiques ; l'auteur ne met pas en évidence la structure tubuleuse de la couche supérieure de la plaquette mais remarque la structure périodique des 2 couches inférieures. Il confirme en 1960 la structure tripartite de la plaquette chez diverses Mousses et Hépatiques.

D.J. PAOLILLO (1965) étudie les spermatides d'une Mousse (Polytrichum commune). La plaquette a une structure tripartite ; la couche supérieure est une bande de tubules parallèles juxtaposés ; la couche moyenne est constituée de colonnes orthogonales aux tubules ; la couche inférieure est formée de baguettes orthogonales aux colonnes. Colonnes et baguettes sont claires et enveloppées d'une matrice

dense. Le même auteur et coll. (1968a) retrouvent une plaquette tristratifiée chez Polytrichum juniperinum.

E.J. BONNOT (1967a) observe dans la spermatide de Bryum capillare un "complexe fibrillaire" de 3 strates : la strate supérieure est formée d'une quinzaine de microtubules, la strate moyenne et l'inférieure sont séparées par une membrane et constituées de lamelles.

Une étude très détaillée de la plaquette stratifiée et des cinétosomes a été effectuée par Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER (1967-1968) dans la spermatide d'une Hépatique, Marchantia polymorpha. Contrairement à l'opinion de E. HEITZ (1959-1960), la plaquette est tétrastratifiée chez cette espèce, comme chez Pellia. Les dimensions des tubules de la couche supérieure, les épaisseurs des autres strates et celles des plans denses et des espaces clairs des couches 2 et 3 ainsi que les positions relatives de ces diverses structures sont identiques chez Marchantia et Pellia, ou ne diffèrent que par de fins détails : certaines structures présentes chez Marchantia n'ont pas été retrouvées chez Pellia et d'autres y ont été mises en évidence.

- Les tubules de la couche supérieure de la plaquette sont libres chez Marchantia ; chez Pellia, deux tubules voisins sont unis par une bande continue.

- La carène appendue aux tubules S1 a une base linéaire chez Marchantia ; elle est déprimée en son centre chez Pellia.

- Aucune structure n'a été mise en évidence dans la zone de transition entre S1 et S2 chez Pellia.

- La couche S1 de la plaquette de Marchantia est constituée de 17 tubules. A un certain stade du développement, les 12°,

13° et 14° tubules (comptés à partir de la gauche de la plaquette stratifiée) sont plus courts que les autres et s'interrompent plus antérieurement que la couche S2 ; les tubules 9, 10, 11, 15, 16 et 17 se prolongent en une languette.

Les divergences de détail ne doivent pas faire oublier que le plan fondamental d'organisation du corps apical est identique chez les deux espèces. Il l'est très probablement chez toutes les Spermatides d'Hépatiques et, à l'exception de la couche S4, se retrouve chez les Mousses.

b)- Les formations analogues chez les Ptéridophytes et les Préphanérogames :

Le développement des spermatides de Ptéridophytes est connu grâce aux recherches de Mme J. VAZART (1964) chez Polypodium vulgare ainsi que celles de Y. TOURTE et Mme G. HUREL-PY (1967) chez Pteridium aquilinum. L'ensemble du développement de la spermatide des Préphanérogames n'est pas connu, J. MIZUKAMI et J. GALL (1966) ne rendant compte que de l'édification de la cinétide chez une Cycadale, Zamia.

Les spermatides de Bryophytes sont biflagellées, celles des Ptéridophytes ou des Cycadales montrent de nombreux cinétosomes localisés le long d'une bande cilifère spiralée. Dans la région antérieure de la spermatide des Fougères, l'association du noyau, d'un corps mitochondrial et d'une structure complexe fibrillaire peut être considérée comme analogue au complexe apical des Muscinées. Chez ces Végétaux, une structure fibrillaire se surajoute, uniquement dans la région antérieure de la spermatide, à un système de microtubules ; ce dernier système peut être considéré comme analogue à la languette des Bryophytes, la

structure surajoutée apparaissant alors analogue à la plaquette stratifiée. La fusion de la totalité des mitochondries de la jeune spermatide en un seul Nebenkern paraît n'exister que chez les Bryophytes, du moins dans l'état actuel des recherches sur la spermatogénèse des Archégoniates.

V - La languette :

La languette est d'abord constituée par la portion des tubules S1 de la plaquette stratifiée qui se prolonge en direction postérieure au delà des couches S2, S3, S4, puis par l'ensemble des tubules qui persistent lorsque les couches inférieures de la plaquette se sont désorganisées.

1°)- Formation et évolution :

a)- Durant les derniers stades de l'allongement de la plaquette stratifiée et avant que cette formation n'atteigne son extension maximale, les tubules S1 commencent à s'allonger en direction postérieure au delà des couches S2, S3, S4 (Sch. 8b et 9a) ; la portion prolongée des tubules S1 est dépourvue de carène ainsi que de bande de liaison ; elle constitue la "languette", ensemble monostrate faisant suite à la plaquette et formé de tubules indépendants, juxtaposés, parallèles entre eux.

b)- Durant la régression de la plaquette stratifiée, l'extension de la languette s'accroît à la fois en direction postérieure par suite de l'allongement de ses tubules constitutifs, et en direction antérieure par suite de la désorganisation des couches inférieures de la plaquette ; celle-ci débute par la région postérieure et progresse en direction des cinétosomes. Le noyau émet une expansion en direction des tubules S1 qui ne reposent plus sur les couches S2, S3, S4 ; cette

expansion forme sur la face dorsale du noyau une sorte de moulure en saillie à sommet plat, d'une largeur de 3 à 8 tubules Sch. 9a), qui progresse à la suite de la désorganisation des couches S2 à S4 et s'étend ainsi en direction des cinétosomes. La moulure commence à se former à droite du corps mitochondrial apical, sous les tubules S1 de droite (fig. 3, pl. 35) ; son sommet est étroit dahs la région antérieure car le corps mitochondrial occupe la partie gauche de la plaquette ; par la suite, le corps mitochondrial apical se condense (son calibre se régularise et sa longueur diminue) et la désorganisation des couches inférieures de la plaquette se poursuit ; la moulure s'élargit (son sommet peut atteindre une largeur de 8 tubules) et se courbe légèrement en direction des tubules S1 de gauche (Sch. 9a).

A un certain niveau (niveau 2, Sch. 8b par exemple), seuls les 6 tubules S1 de gauche cheminent au-dessus de la moulure ; les portions de tubules S1 qui apparaissent à droite de la moulure s'éloignent des tubules épinucléaires et subissent une élongation considérable ; ils cheminent à la périphérie de la cellule et l'encerclent complètement avant de se disposer parallèlement au corps apical (Sch. 8b). Un diverticule à double membrane se forme sous ces tubules et s'allonge en même temps qu'eux, de sorte qu'il s'étend depuis la région où les tubules s'éloignent des éléments épinucléaires jusqu'à leur extrémité postérieure. Ainsi se trouve constituée une languette complexe dans laquelle se distinguent 3 parties : nous appelons "languette épinucléaire" (LN sur les figures ou schémas) la région des 6 tubules S1 de gauche longeant la surface dorsale du noyau et "languette sur diverticule" (Ld) la région des tubules S1 s'étendant entre le plasmalemme et un diverticule. La languette sur diverticules est située à droite

SCHEMA 8

Evolution du complexe apical dans les spermatides de Pellia epiphylla.

Chacun des schémas interprétatifs est établi à partir des documents fournis par les spermatides (sensiblement au même stade) d'une seule anthéridie.

a)- Schéma correspondant à un stade peu avancé du développement de la plaquette stratifiée. Les deux cinétosomes (cA et cB) sont rapprochés et les couches inférieures de la plaquette se prolongent sur la droite de sa couche supérieure S1.

b)- Schéma correspondant à un stade de régression de la plaquette stratifiée. La région antérieure du noyau s'étire en un cône allongé. Les tubules S1 de la plaquette stratifiée se prolongent en une languette transitoire LT dans laquelle se distinguent la languette épinucléaire (LN) et la languette sur diverticule (Ld). La moulure nucléaire et la languette épinucléaire progressent en direction antérieure par suite de la désorganisation des couches inférieures de la plaquette. Les tubules S1 situés à droite de la languette épinucléaire se prolongent à la périphérie interne de la cellule, entre un diverticule du reticulum et le plasmalemme, constituant la languette sur diverticule.

c)- Schéma correspondant à un stade évolutif postérieur à b. Le noyau a accompli un tour et demi de spire. Noter la disparition de la plaquette stratifiée, la différenciation de la languette définitive LD, le recul de la languette transitoire LT en direction postérieure et la bifurcation de la languette épinucléaire LN.

d)- Schéma correspondant à un stade évolutif postérieur à c. Le noyau a accompli deux tours et demi de spire. Noter l'extension de la languette définitive et le recul de la languette transitoire LT.

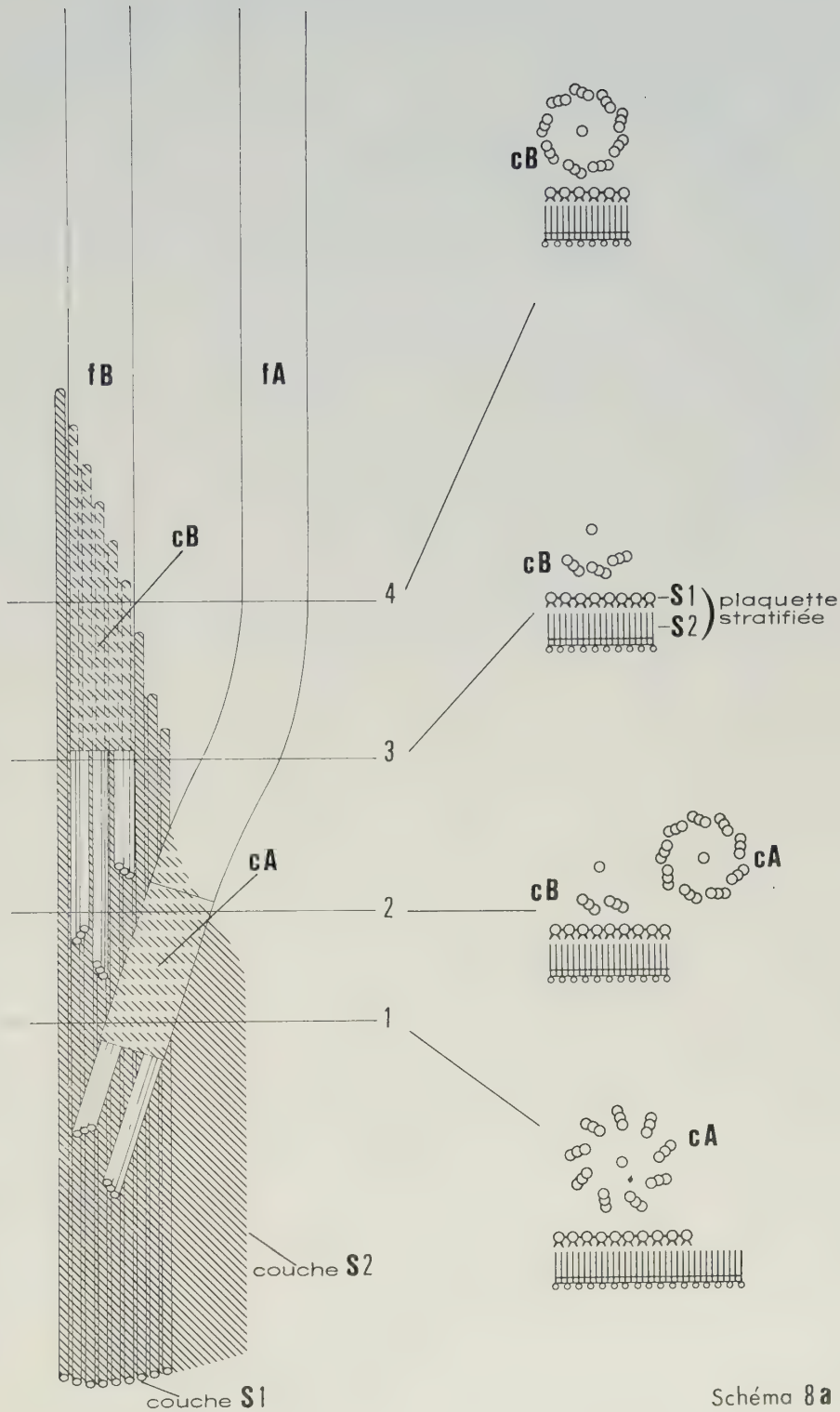
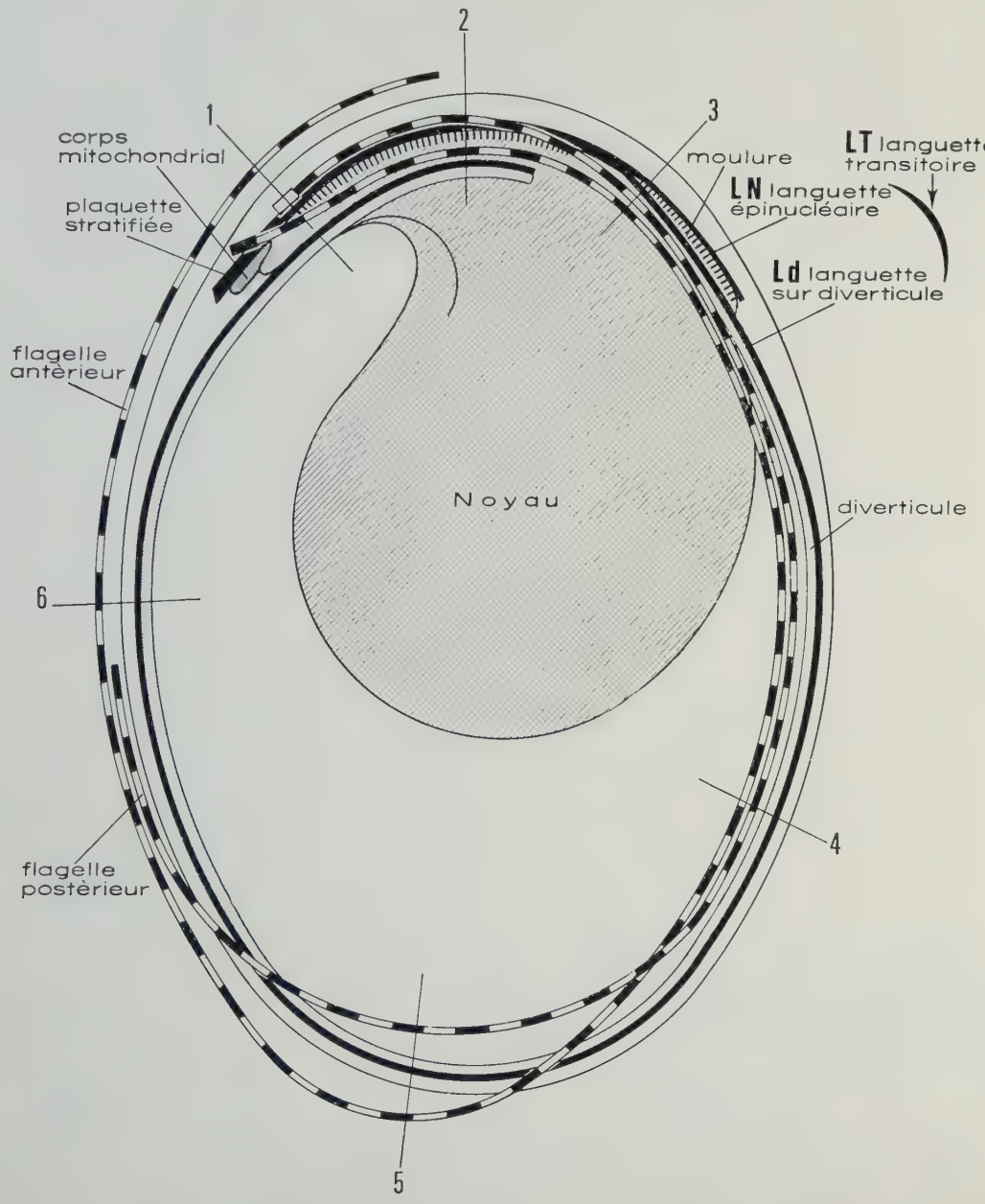

fB
fA
cB
cA
4
3
2
1
cB
S1
S2
plaquette stratifiée
cB
cA
cB
cA
couche S2
couche S1

Schéma 8a

Schéma 8b


1
2
3
4
5
6
corps mitochondrial
plaquette stratifiée
flagelle antérieur
flagelle postérieur
Noyau
moulure
LT languette transitoire
LN languette épinucléaire
Ld languette sur diverticule
diverticule

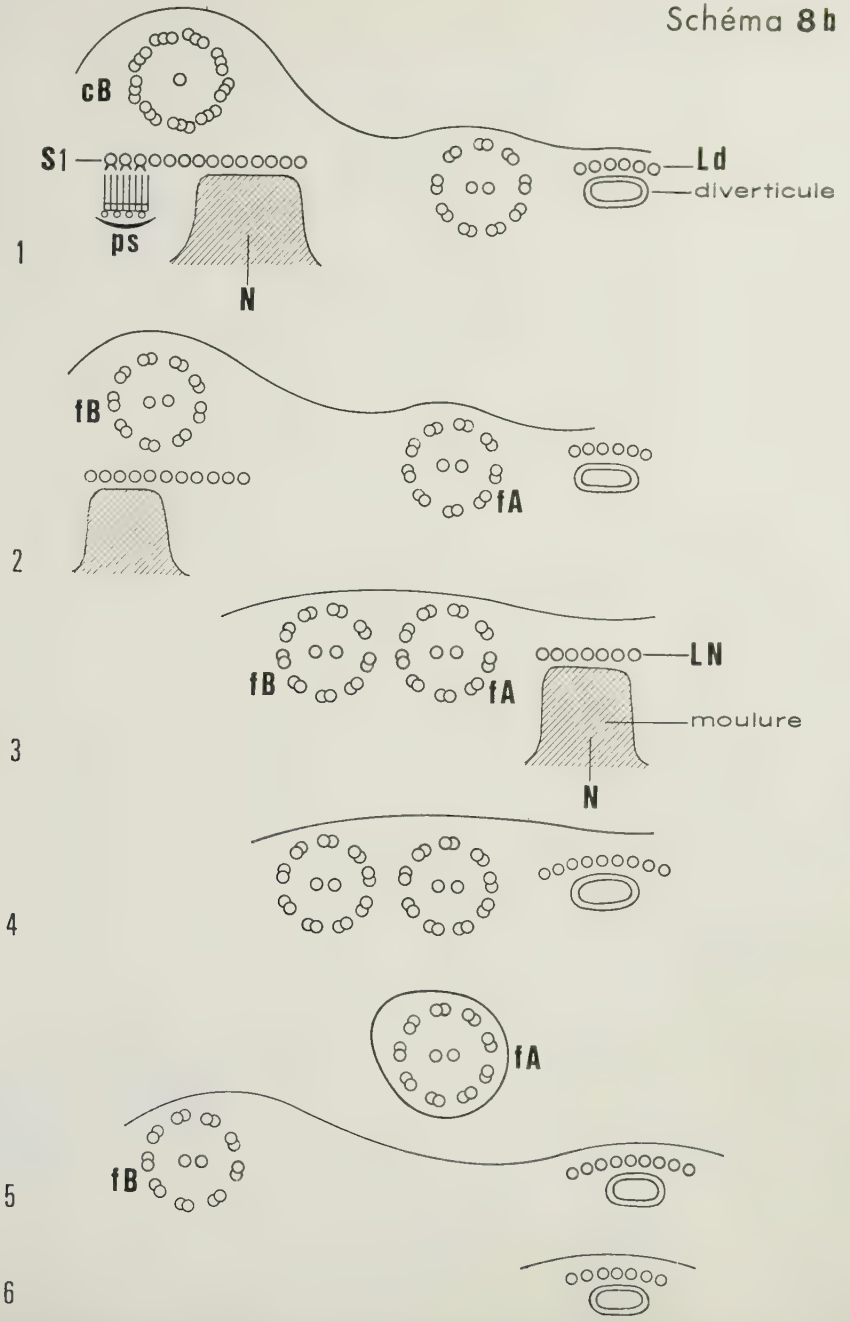
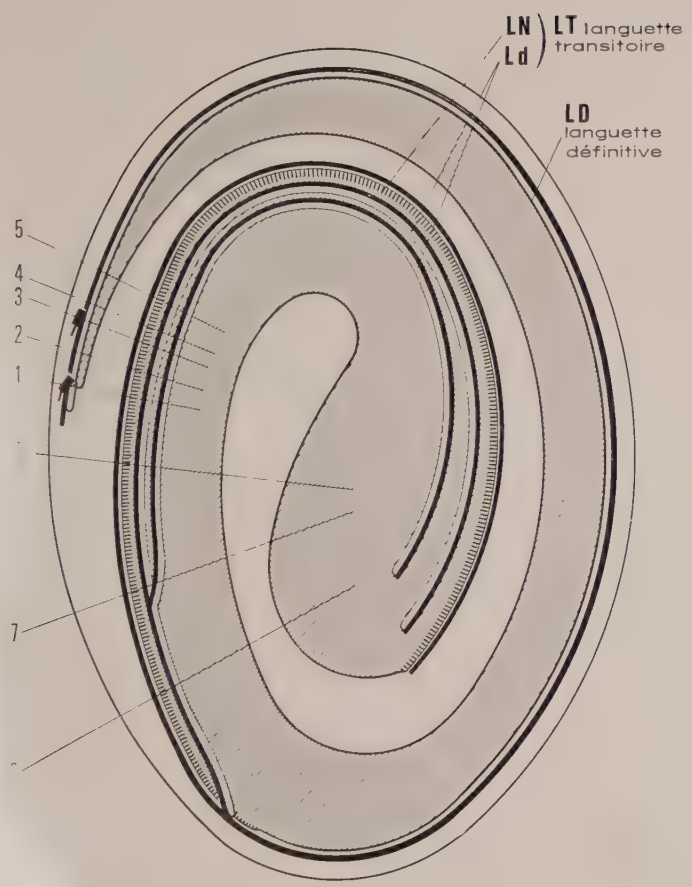
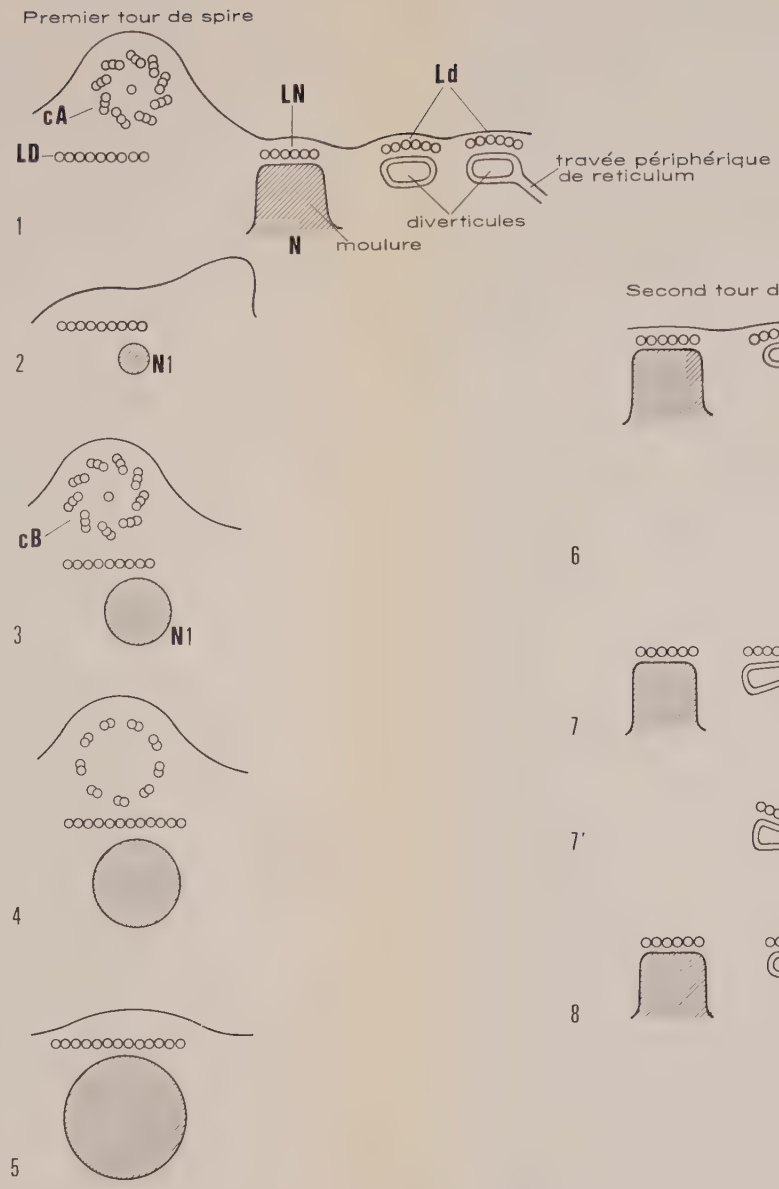
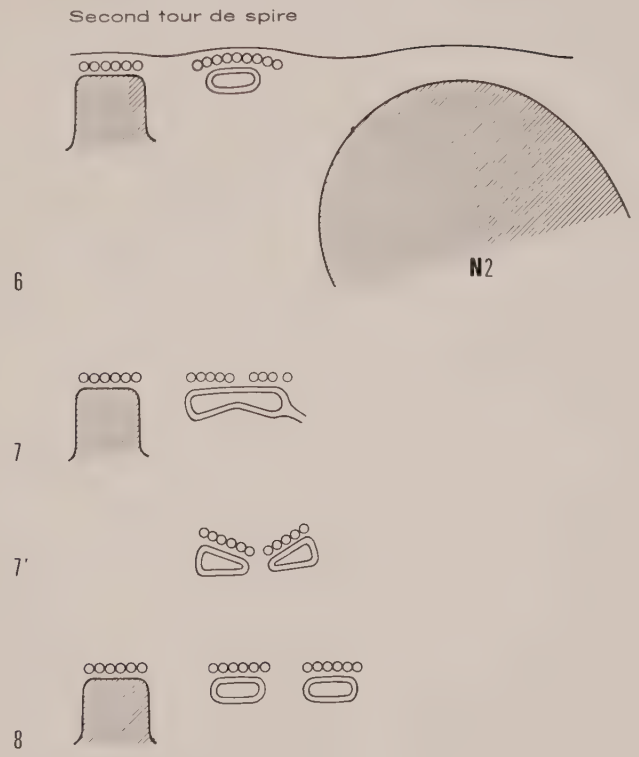
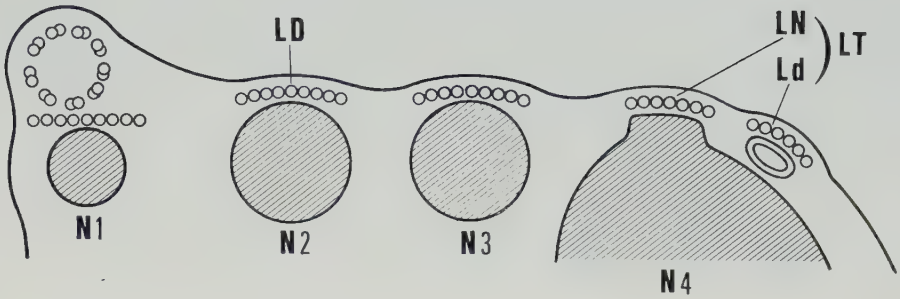

cB
S1
ps
N
Ld
diverticule
1
fB
fA
2
LN
moulure
3
4
5
6

Schéma **8 c**


LN
Ld
LT languette transitoire
LD languette définitive
5
4
3
2
1
7


Premier tour de spire
cA
LN
Ld
LD
travée périphérique de reticulum
1
N
moulure
diverticules
2
N1
cB
3
N1
4
5


Second tour de spire
6
N2
7
7'
8



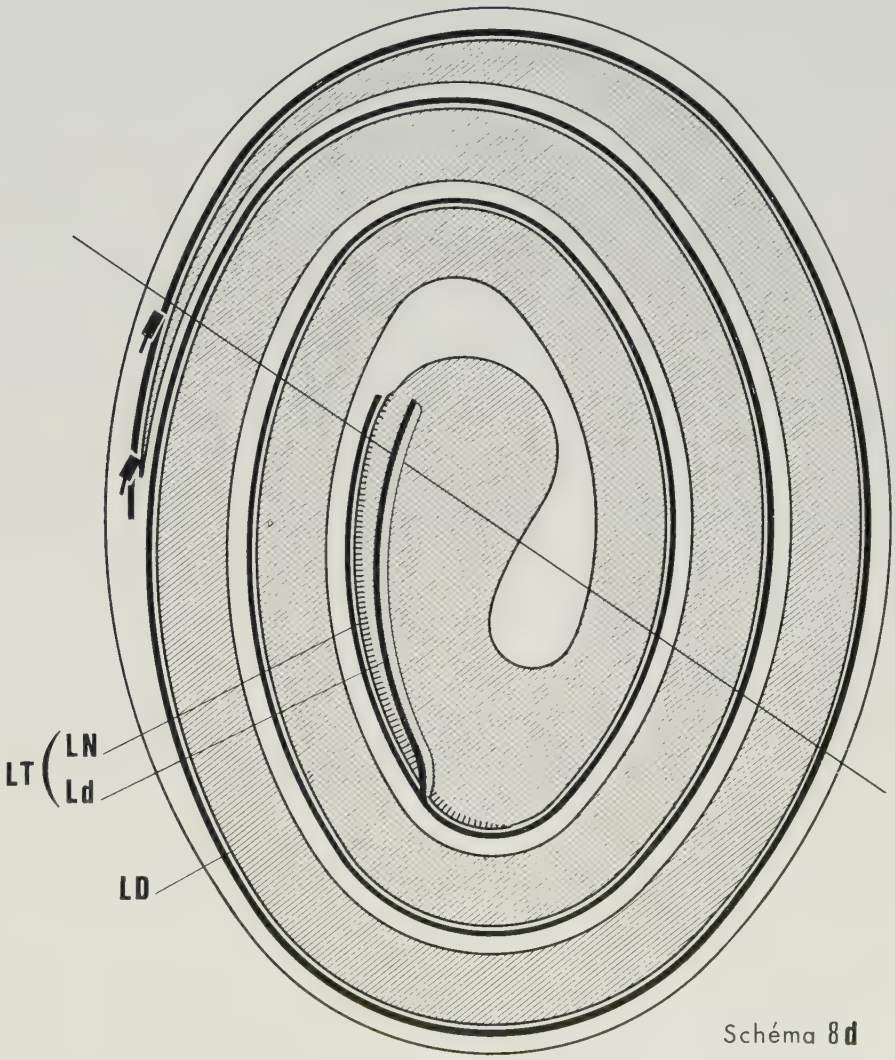


Schéma 8d

Schéma 9 - Reconstitution schématique du complexe apical de la spermatide de Pellia epiphylla. Deux stades évolutifs.

a - Début de régression des couches inférieures de la plaquette stratifiée, après l'individualisation et la contraction du corps mitochondrial apical. Stade intermédiaire entre ceux schématisés en 8a et 8b. Les 15 tubules constituant la couche supérieure de la plaquette stratifiée se prolongent au delà des couches inférieures en une languette transitoire, vers laquelle le noyau émet une expansion en forme de moulure. Certains tubules de la languette transitoire sur diverticule encerclent la cellule avant de se disposer parallèlement à la plaquette.

b - Spermatide dont le noyau a accompli environ 2 tours de spire (stade voisin de celui schématisé en 8c). La languette définitive est constituée de 9 tubules. Noter l'éloignement des cinétosomes, la forme effilée du noyau, la persistance d'une masse dense en avant du corps mitochondrial apical et le glissement de celui-ci sur la gauche de la languette.

Schéma 9a

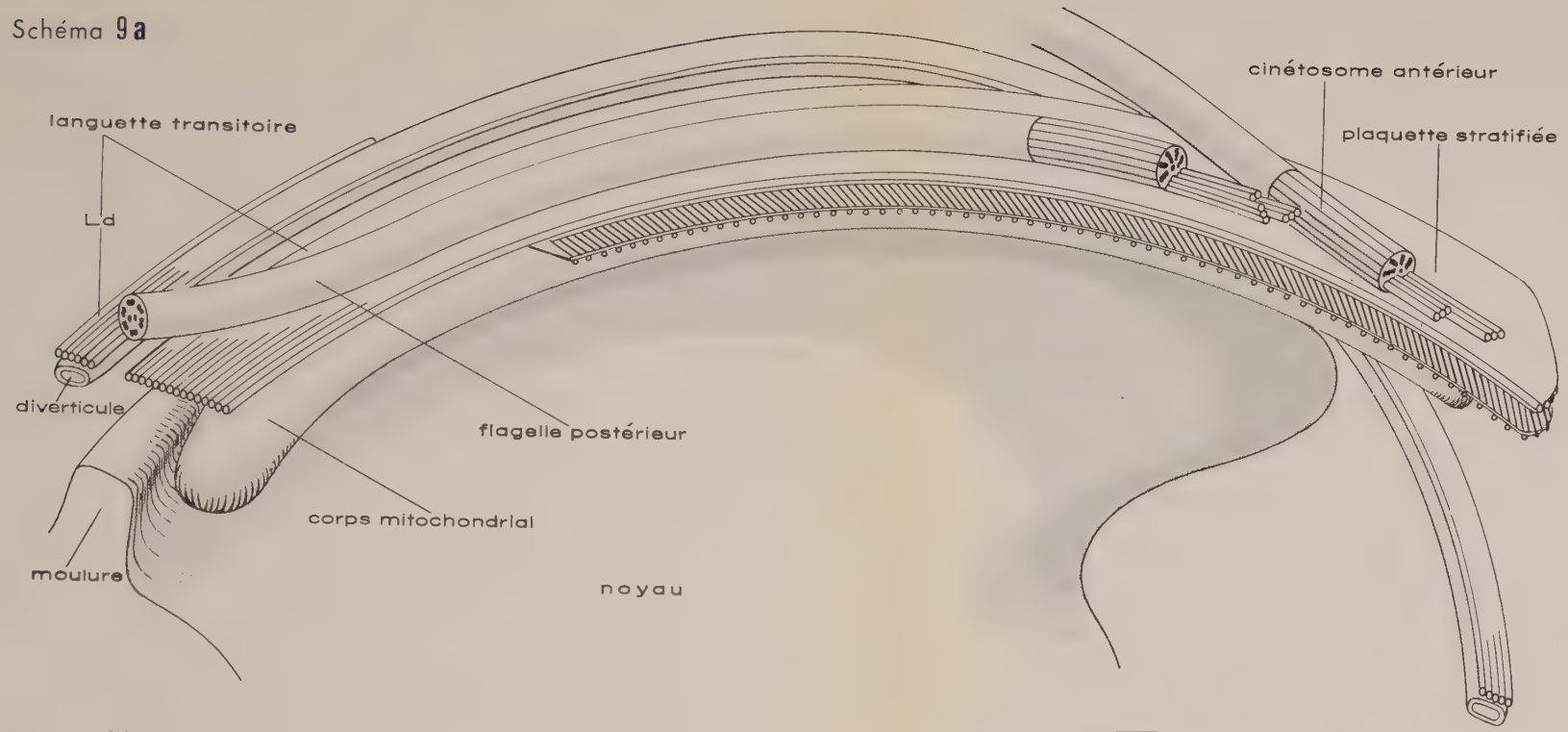
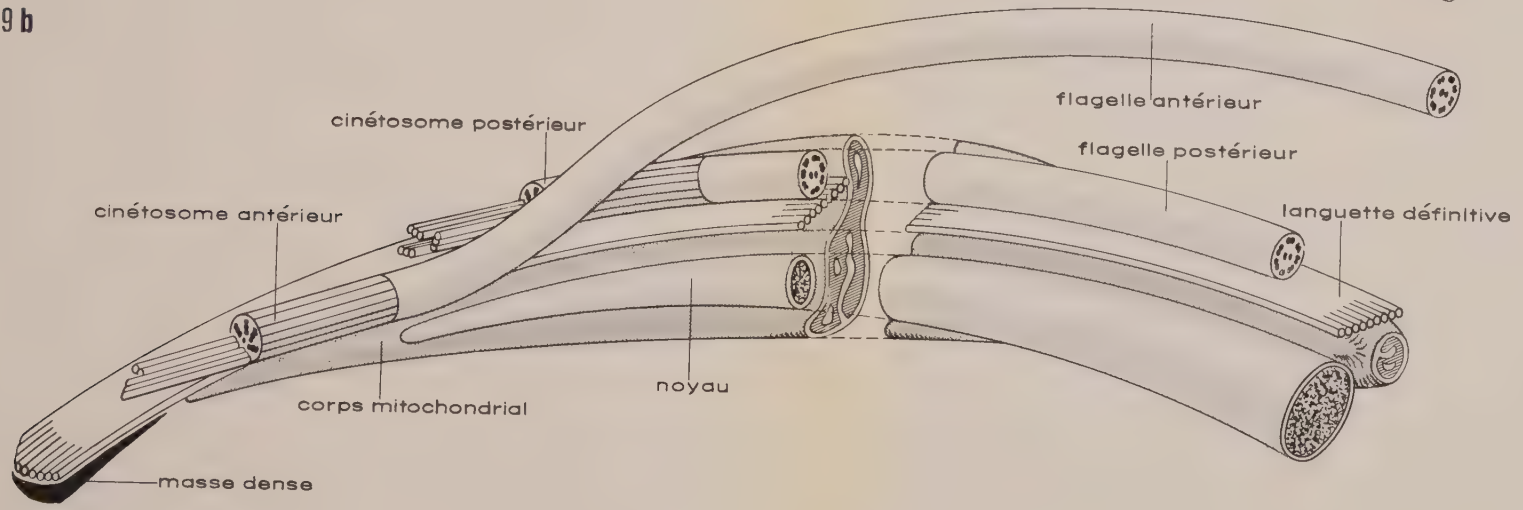


Schéma 9b



de la languette épinucléaire.

c)- Le diverticule tire son origine du reticulum endoplasmique. Selon toute vraisemblance, l'extrémité de la travée périphérique de reticulum (voir Sch. 10) s'enroule au niveau des tubules qui s'éloignent de la languette épinucléaire. La membrane externe du bourrelet qui résulte de cet enroulement se soude sur la plus grande partie de sa longueur ; il s'individualise ainsi un diverticule à double membrane en forme de gaine, qui ne demeure abouché à la travée qu'en quelques plages de faible étendue (fig. 4, pl. 36). Il n'a été observé aucune connexion entre la paroi nucléaire et le diverticule de reticulum.

d)- Le nombre de tubules cheminant au-dessus du diverticule est variable ; il peut atteindre 9 dans la région antérieure de la languette, alors que 4 à 7 tubules seulement se prolongent jusqu'au niveau du complexe apical (Sch. 8b). Nous rappelons que la couche S1 de la plaquette stratifiée est constituée de 15 tubules et que la languette épinucléaire comporte 6 tubules : les 9 éléments de la languette sur diverticule représentent les tubules S1 de droite de la plaquette stratifiée.

e)- Lorsque le noyau a accompli un tour et demi de spire (Sch. 8c), la languette sur diverticule s'est dédoublée : les 9 tubules qui s'étendent au-dessus du diverticule unique (Sch. 8c, niveau 6) se sont répartis en 2 ensembles et se sont allongés au-dessus de 2 diverticules issus de la bipartition du diverticule d'origine. Les aspects observés suggèrent que cette bipartition résulte de l'élargissement préalable du diverticule d'origine (Sch. 8c, niveau 7), puis de l'étranglement de sa région médiane ; la soudure des membranes individualise alors 2 éléments (niveau 7'). Afin

de les différencier, nous appelons "diverticule interne" celui qui est le plus proche de la fraction épinucléaire de la languette et "diverticule externe" le second. Il est à noter qu'il n'a été observé aucune connexion entre le diverticule interne et le reticulum endoplasmique ; par contre, le diverticule externe, comme le diverticule d'origine, est abouché à la travée périphérique de reticulum en quelques plages d'étendue limitée (fig. 4, pl. 36 et Sch. 10). Les deux diverticules sont irrégulièrement dilatés (fig. 2 et 3, pl. 33). Ils sont constamment associés aux 2 groupes de tubules : leur allongement accompagne celui des tubules, l'extension de ces deux formations d'origine différente est identique et se poursuit jusqu'à l'extrémité postérieure du noyau (fig. 1, pl. 36).

La répartition des tubules précède ou suit la différenciation de 3 nouveaux éléments qui se joignent aux 9 autres, de sorte qu'elle peut porter sur 9 à 12 tubules ; généralement, 6 tubules se disposent d'emblée sur le diverticule interne, les autres éléments se disposant sur l'externe (fig. 3, pl. 36); finalement, chaque diverticule est surmonté de 6 tubules et la languette sur diverticules est constituée de 2 séries de 6 éléments au niveau de la région postérieure du noyau, chez des spermatides évoluées.

f)- Lorsque la région antérieure du noyau acquiert la forme d'un cône courbe effilé, sa section apparaît circulaire par suite du recul en direction postérieure de la moulure dorsale. Les 6 tubules de la languette épinucléaire accompagnent le recul de la moulure, de sorte qu'il ne subsiste que 9 tubules entre l'extrémité antérieure du corps apical et celle de la languette épinucléaire : ce groupe de tubules constitue l'ébauche de la languette du spermatozoïde. Le recul de la languette épinucléaire est accompagné de celui de la languette sur diverticules.

g)- Au cours des derniers stades évolutifs de la spermatide, la languette épinucléaire et la languette sur diverticules ont une extension réduite (Sch. 8d, fig. 1 et 2, pl. 37). Elle a disparu dans le spermatozoïde où ne persiste qu'un seul groupe de 9 tubules représentant la réunion des tubules S1 de droite de la plaquette stratifiée qui se prolongent dans la spermatide entre les diverticules et le plasmalemme.

La languette de la spermatide est donc un ensemble structural temporaire dont l'extension est inversement proportionnelle à celle d'un autre ensemble résultant de la réunion de 9 des 12 tubules de la languette en diverticules. Afin de différencier ces diverses formations tout en rappelant l'une de leurs caractéristiques, nous désignons par "languette transitoire" (LT sur les schémas) l'ensemble des tubules épinucléaires et des tubules sur diverticules et par "languette définitive" (LD) le groupe de 9 tubules qui persiste dans le spermatozoïde. Durant certains stades de son évolution, la spermatide possède les deux types de languette, le spermatozoïde n'est pourvu que d'une languette définitive.

En conclusion, la languette de la spermatide de Pellia est un ensemble structural complexe d'abord représenté par la prolongation des tubules S1 de la plaquette au delà des couches S2, S3 et S4, puis par ces 15 tubules lorsque la plaquette s'est désorganisée. Dans une première phase, il s'édifie une languette transitoire bipartite. Les 6 tubules S1 de gauche en constituent la partie épinucléaire ; ils demeurent entre le plasmalemme et une moulure en saillie sur la face dorsale du noyau. Les 9 tubules de droite s'allongent à la périphérie de la cellule, qu'ils encler-

clent avant de se disposer parallèlement au complexe apical ; leur extension est toujours plus importante que celle des tubules épinucléaires ; ils sont disposés entre le plasmalemme et un diverticule issu du retournement de l'extrémité de la travée périphérique de reticulum et constituent 9 des 12 tubules répartis en 2 séries de 6 et disposés au-dessus de 2 diverticules résultant de la bipartition du diverticule unique.

Au cours des stades évolutifs ultérieurs, le nucléoplasme est progressivement éliminé de la région apicale du noyau ; la face dorsale de cet élément ne se déforme plus en moulure dans les régions dépourvues de nucléoplasme, ce qui entraîne un recul de l'ensemble de la languette transitoire, le glissement des 6 tubules de la languette épinucléaire en direction postérieure et le regroupement des 9 tubules S1 de la languette sur diverticules. La languette définitive du spermatozoïde résulte donc de la réunion de 9 tubules S1 de droite de la plaquette stratifiée ; elle s'édifie progressivement et son extension est inversement proportionnelle à celle de la languette transitoire.

2°)- Discussion :

A - La languette des Bryophytes :

Dans les spermatides de Polytrichum, D.J. PAOLILLO (1965) observe que les tubules de la couche supérieure de la plaquette stratifiée se prolongent le long du noyau en une bande qu'il identifie au "filamentous appendage" décrit par S. SATÔ (1954-1956) dans les spermatozoïdes de divers Bryophytes, et à la "fibrous band" observée par Miss I. MANTON (1957) dans ceux d'un Sphagnum. L'étude de la spermatide de Polytrichum juniperinum effectuée par D.J. PAOLILLO et coll. (1968a) montre que les tubules sont de longueur inégale et que 4 seule-

ment se prolongent jusqu'à la partie postérieure du noyau. Dans les spermatides de Marchantia polymorpha, Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER observent que seuls 6 des 17 tubules de la plaquette se prolongent jusqu'au niveau de la région postérieure de la cellule. Cette bande de 6 tubules est appelée "Vierergruppe appendage" (1967) ou "pline" (1968), que nous avons traduit par "languette". La languette est constituée d'un seul groupe de 6 tubules qui cheminent entre le noyau et le plasmalemme.

Il apparaît donc que le prolongement des tubules de la couche supérieure de la plaquette stratifiée est un fait général chez les Bryophytes. Par contre, la languette de Pellia epiphylla est actuellement le seul exemple connu jusqu'ici d'une évolution complexe. Celle des autres Bryophytes est constituée d'une seule série de tubules épinucléaires ; son existence n'est pas transitoire, puisqu'elle persiste dans le spermatozoïde ; enfin, les diverticules du reticulum endoplasmique ne se forment pas. D'autre part, le nombre de tubules constituant la languette est variable.

B - Les formations analogues chez d'autres Végétaux :

Des formations analogues à la languette des Bryophytes existent dans d'autres groupes végétaux. Dans la spermatide âgée de Nitella missouriensis (Characée), F.R. TURNER (1968) observe la formation d'une série de tubules entre le noyau et le plasmalemme ; ces tubules s'étendent d'une extrémité à l'autre de la cellule, sur sa face dorsale ; il n'existe pas de formation comparable à la plaquette stratifiée des Bryophytes. Les recherches de Mme J. VAZART (1964) sur Polypodium vulgare ainsi que celles de Y. TOURTE et Mme G. HUREL-PY (1967) sur Pteridium aquilinum montrent que les régions moyennes et postérieu-

res de la bande cilifère sont les prolongements des couches inférieures d'une structure plus complexe de la région antérieure, où une couche dense se surajoute à la bande fibreuse : le complexe antérieur peut donc être considéré comme analogue à la plaquette des Bryophytes et la bande fibreuse comme analogue à la languette. Cette bande est essentiellement constituée de 1 ou 2 couches de tubules. Enfin, chez les Cycadales (Zamia - K. NORSTOG, 1967-1968), seules certaines couches de la bande cilifère se prolongent en direction postérieure ; la structure de ce prolongement analogue à la languette des Bryophytes est encore plus complexe que chez les Ptéridophytes.

VI - Le corps basal :

1°)- Formation :

Dans la spermatide qui vient de s'individualiser, le plaste est localisé entre le noyau et le plasmalemme, sur la face externe de la cellule (Sch. 5c) ; il mesure environ 10 µ de longueur ; son stroma dense et granuleux contient de nombreuses vésicules claires et quelques inclusions amylacées de taille réduite. La condensation du plaste débute avant la différenciation de la plaquette stratifiée ; elle consiste en un raccourcissement de l'organite et un rassemblement de son stroma dans la région opposée au noyau (Sch. 5d) ; au cours de cette évolution, les vésicules présentes dans le stroma plastidial deviennent plus rares.

La contraction du plaste est accompagnée du rassemblement des mitochondries dans la région de la cellule opposée au noyau, et de leur fusion en un unique Nebenkern irrégulièrement lobé (Sch. 5e). La matrice mitochondriale s'éclaircit au moment de la formation du Nebenkern (fig. 1, pl. 32) et de-

vient alors nettement moins dense que le stroma plastidial ; par la suite, elle se densifie et devient granuleuse, mais les crêtes demeurent claires et dilatées, de sorte que la coupe d'un lobe a l'aspect "vacuolisé" (fig. 1, pl. 34) déjà remarqué par E. HEITZ (1959) dans le lobe apical du Nebenkern ou le corps mitochondrial apical de diverses Hépatiques. Cette évolution structurale s'effectue en même temps que l'accolement progressif de certains lobes du Nebenkern au plaste (Sch. 5f) ; une rupture individualise le corps mitochondrial basal, qui se rassemble alors autour du plaste et se modèle sur sa surface (Sch. 5g). Il s'est ainsi constitué dans la région postérieure de la spermatide de Pellia une association que nous désignons sous le terme de "corps basal" ; certains auteurs ayant désigné des formations homologues chez d'autres Bryophytes sous des vocables différents, il est nécessaire d'en rappeler les acceptions avant de décrire l'évolution structurale du corps basal chez Pellia.

2°)- Nomenclature utilisée :

La formation d'un constituant spécial dans la région basale de la spermatide a été observée depuis longtemps en microscopie photonique, en particulier chez les Mousses. La difficulté de son observation a amené des interprétations différentes. C'est ainsi que M. WILSON (1911) appelle "limosphère" un corps qui résulte de l'extrusion d'une fraction du nucléole dans le cytoplasme ; C.E. ALLEN(1917) émet l'hypothèse que la limosphère se forme par condensation d'une partie du cytoplasme, tandis qu'elle résulte, pour R.H. BOWEN (1927), du rassemblement de plaquettes osmiophiles et représente pour T.E. WEIER (1931) la condensation du plaste, considéré comme une masse cytoplasmique spécialisée dans l'élaboration.

Ce terme a été à nouveau utilisé dans deux études menées en microscopie électronique sur la spermatide de 2 Mousses ; D.J. PAOLILLO (1965) puis E.J. BONNOT (1967a) désignent ainsi l'ensemble plasto-mitochondrial de la région postérieure de la cellule et le dernier auteur propose en outre de reprendre le terme de "limoplaste" pour désigner le plaste.

La diversité des acceptions successivement données au terme "limosphère" nous a poussé à l'éviter ; en conséquence, nous ne voyons pas l'intérêt d'appeler "limoplaste" l'unique plaste des spermatides.

3°)- Structure et évolution :

A - Le corps mitochondrial basal :

La densification de la matrice se poursuit et s'accompagne d'une réduction des "espaces intracristaux" (J. ANDRÉ, 1962), d'une lamination des crêtes et de leur orientation parallèlement aux parois (fig. 1 et 2, pl. 31 par exemple), ainsi que d'une diminution du calibre des lobes. Il est probable que le volume du corps mitochondrial se réduit ; si cette hypothèse est exacte, l'évolution structurale observée est liée à une déshydratation du Nebenkern, puis du corps mitochondrial, dont la surface externe se déforme fréquemment en volumineuses vésicules à double membrane (fig. 1, pl. 28 ; pl. 30 et fig. 1, pl. 31) dans lesquelles s'accumule une substance non osmiophile résultant d'une réduction du volume de la matrice mitochondriale et de celui des crêtes. Les vésicules mitochondriales peuvent s'isoler ; leur contenu s'organise en général en structures multilamellaires avant le rejet de l'enclave dans le gel péricellulaire.

La densification de la matrice et la lamination des crêtes s'accentuent au cours des stades ultérieurs, si bien qu'en

fin d'évolution des spermatides, le calibre du corps mitochondrial basal est localement très réduit (fig. 4, pl. 31) ; l'élimination de substance claire a sans doute cessé, puisque le corps mitochondrial ne porte plus de vésicules externes. Il est à noter que l'espace entre les deux membranes constituant la paroi du corps mitochondrial demeure constamment clair et que son épaisseur n'est jamais inférieure à 100 A°. Enfin, des faisceaux de fibrilles de 40 A° environ de diamètre relient les digitations voisines du corps mitochondrial basal. lorsque celui-ci est moulé sur un plaste globuleux (fig. 1 et 2, pl. 32) ; ces fibrilles n'ont été retrouvées ni au cours des derniers stades de l'évolution de la spermatide, ni dans le spermatozoïde ; il s'agit donc probablement d'une différenciation temporaire.

B - Le plaste :

Lorsque le corps mitochondrial basal s'individualise, le plaste est irrégulièrement lobé ; sa forme se régularise par la suite et devient globuleuse (fig. 1, pl. 28). Le plaste mesure alors 2 µ de diamètre ; son stroma est dense ; des vésicules et quelques thylacoïdes subsistent en début d'évolution, puis disparaissent par la suite alors que la taille des inclusions amylacées augmente. Chez la spermatide pourvue d'une languette transitoire, le plaste recèle une vingtaine de grains d'amidon de 0,2 à 0,5 µ de diamètre, souvent osmiophiles (fig. 1, pl. 28) ; les deux membranes de l'enveloppe plastidiale sont étroitement accolées ; le stroma est dense et des plages granulo-fibrillaires y sont parfois visibles. En fin d'évolution, le plaste se déforme en croissant et s'étire (fig. 4, pl. 31) ; les inclusions amylacées s'alignent en chapelet.

C - Les rapports entre les constituants du corps basal :

Le corps mitochondrial basal se modèle sur la surface plasdiale, mais les membranes limitantes des deux organites ne fusionnent pas ; entre elles subsiste un espace laminaire d'au minimum 100 A° qui demeure dépourvu de toute inclusion, y compris de ribosomes. Certaines micrographies révèlent la présence de quelques fibrilles d'environ 40 A° de diamètre, reliant la membrane externe du corps mitochondrial à celle du plaste globuleux (fig. 3, pl. 31) ; ces différenciations sont vraisemblablement temporaires car elles n'ont pas été observées lorsque, en fin d'évolution, le plaste est allongé.

D - Les rapports entre le corps basal et d'autres constituants cellulaires :

En fin d'évolution des spermatides, une travée de reticulum endoplasmique vient souvent s'appliquer contre le corps basal, qu'elle enveloppe plus ou moins complètement (fig. 1, pl. 28) ; cette travée se désorganise au cours des derniers stades de l'évolution des spermatides, en même temps que les autres différenciations du reticulum.

Lorsque le noyau a accompli deux tours de spire, le corps basal s'allonge et s'applique (en général par sa région mitochondriale) contre la paroi nucléaire, sur la face interne de la région postérieure du noyau (Sch. 5i).

4°)- Discussion :

L'accolement d'un plaste et d'un corps mitochondrial résultant de la coalescence de mitochondries n'existe que dans la spermatide des Bryophytes.

a)- Chez les Hépatiques, S. SATÔ (1962) n'observe pas

d'association plaste-mitochondrie dans la spermatide de Conocephalum conicum. Aucun chercheur à notre connaissance n'a donné de renseignements sur la constitution d'un corps basal dans les spermatides d'Hépatiques ; notre étude de Pellia semble être la première à rendre compte d'une telle évolution.

b)- Chez les Mousses, la formation d'un corps basal semble être un phénomène général qui a été observé dans les cellules de plusieurs espèces. Chez un Bryum et chez Funaria hygrometrica, C.N. SUN (1963) ne reconnaît pas la nature double du corps basal : la partie mitochondriale est assimilée à un plaste modifié ou à une portion de plaste et correspondrait au "Nebenkern" observé par S. IKENO (1903) chez Marchantia : "The Nebenkern ... seems be derived from a chloroplast ..." (p. 666). L'auteur ne reconnaît pas non plus la nature plastidiale de la région qui est accolée à la mitochondrie : il la décrit comme "a compact body with osmiophilic globules" (p. 666) et l'appelle "pyrenoid". Le "pyrenoid" et le "Nebenkern" seraient en relation avec le chloroplaste.

D.J. PAOLILLO (1965) chez Polytrichum commune et P. juniperinum reconnaît le premier la nature mixte du corps basal : c'est un complexe structural composé d'un plaste partiellement entouré d'une calotte formée par la coalescence de mitochondries.

E.J. BONNOT (1967a) fait part d'observations sur les spermatides de Bryum capillare. Il confirme que le Nebenkern résulte de la fusion de mitochondries et s'applique contre le noyau avant de coiffer le plaste. Le plaste est amylifère mais n'a plus une organisation granaire comme le plaste foliacé de la jeune anthéridie.

L. GENEVES (1967b) étudie la spermatide de Polytrichum formosum et signale l'existence de deux plastes dans chacune d'elles ; ce fait n'est pas mis en évidence par D.J. PAOLILLO (1965) chez deux autres Polytrics et reste le seul exemple de l'existence d'un système biplastidié dans les spermatides de Bryophytes. Chaque plaste est entouré d'un chapelet de mitochondries et les deux formations mixtes se séparent ; l'auteur n'envisage le devenir que de "celui qui est attenant au noyau" (p. 1679). Ce plaste contient des inclusions amylacées et une structure transitoire de nature fibrillaire. Les mitochondries s'allongent et fusionnent entre elles, le volume des crêtes croît et la matrice s'opacifie. Des fibrilles analogues à celles de Pellia semblent unir plaste et mitochondrie. Des dilatations locales de cavités allongées du reticulum endoplasmique s'insèrent dans les sinuosités de la paroi distale du plaste : ces rapports de contiguité sont temporaires. Les rapports plaste-réticulum endoplasmique sont aussi transitoires chez Pellia mais le reticulum ne se dilate pas en vésicules et la face distale du plaste ne devient pas papilleuse.

Les recherches que nous venons d'évoquer montrent que le corps basal des Mousses est analogue à celui de Pellia et que sa formation et son évolution s'effectuent suivant des processus identiques ou très voisins.

Les spermatides de Characées semblent être monoplastidiées ; F.R. TURNER (1968) représente un seul plaste dans le spermatozoïde de Nitella missouriensis, mais ne donne aucun détail sur sa structure et ne précise pas si, dans la spermatide, il est associé ou non à des mitochondries.

Les spermatides des Ptéridophytes possèdent plusieurs plastes indépendants, ainsi qu'il ressort des recherches de Miss I. MANTON (1959) sur Pteridium aquilinum et de Mme J. VAZART

(1965) sur Polypodium vulgare. De plus, les mitochondries ne fusionnent pas en un unique Nebenkern ; il ne se constitue donc aucune association comparable au corps basal des Bryophytes.

VII - Le reticulum endoplasmique :

Le reticulum endoplasmique est fréquemment en rapport avec la paroi nucléaire durant les premiers stades de l'évolution des spermatides ; par la suite, ces connexions disparaissent.

La disposition du reticulum se modifie au moment du groupement des constituants cytoplasmiques dans la région opposée au noyau. Dans la jeune spermatide, lorsque la plaquette stratifiée se différencie, une vaste travée se dispose à la périphérie de la cellule, sous le plasmalemme, et enveloppe la totalité de la spermatide à l'exception de la région voisine des cinétosomes. La travée périphérique s'efface devant la cinétide durant l'allongement de la plaquette stratifiée, et devant la languette lorsque ses tubules constitutifs s'allongent en direction postérieure ; dans les spermatides dont le noyau a accompli un tour de spire, la travée périphérique se présente sur la face externe de la cellule comme une enveloppe pourvue d'une déchirure allongée au niveau de la languette (Sch. 10a). Dans la région antérieure, la travée se résoud en canalicules irrégulièrement dilatés ; certains d'entre eux se prolongent en direction du centre de la spire nucléaire et se résolvent en vésicules au voisinage de la vésicule basale ; celle-ci est localisée à la périphérie interne de la cellule et la travée périphérique ne se prolonge pas à son niveau (Sch. 10b) ; la formation de cette enclave basale ré-

Schéma 10 - Reconstitution schématique des différenciations périphériques du reticulum endoplasmique dans la spermatide de Pellia epiphylla.

a - vue par la face externe.
b - vue par la face interne.
c - coupe suivant A B.

Noter l'absence de la travée périphérique entre les deux tours de spire du noyau (N) ainsi qu'au niveau de la vésicule basale. Remarquer les abouchements de cette formation avec le diverticule interne se trouvant sous une partie de la languette transitoire.

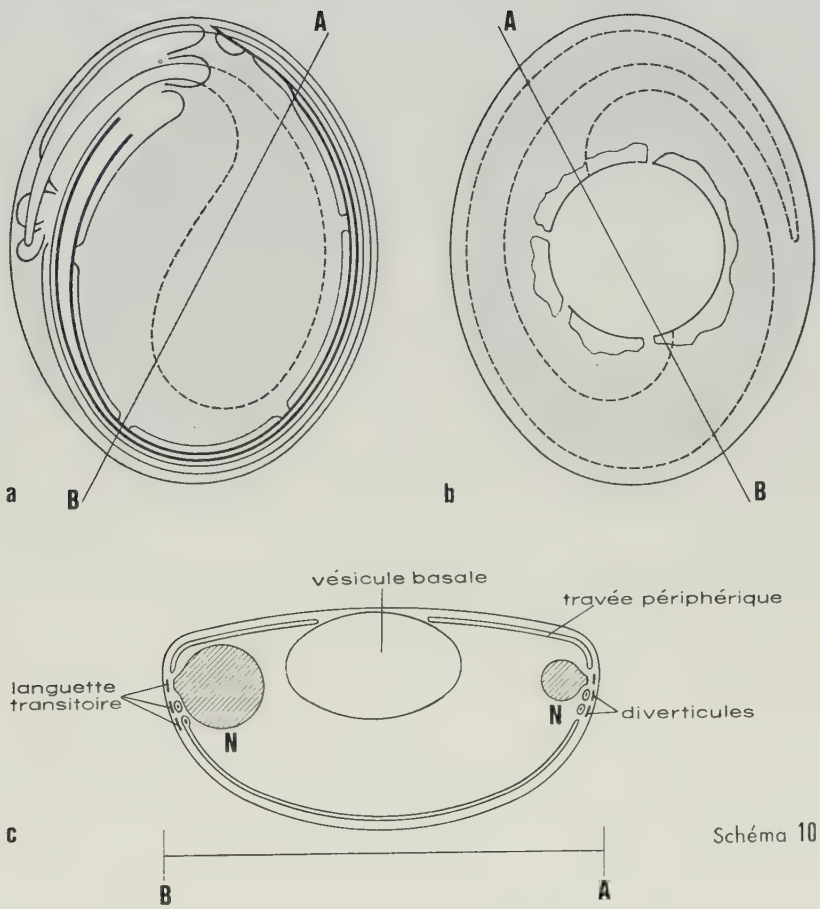

A
B
a
A
B
b
vésicule basale
travée périphérique
languette transitoire
N
N
diverticules
c
B
A

Schéma 10

sulte probablement de la coalescence des vésicules isolées des canalicules du reticulum. Dans la région postérieure de la spermatide, le reticulum se présente sous forme de travées bifurquées, rarement abouchées à la travée périphérique ; l'une des travées internes peut envelopper plus ou moins complètement le corps basal ; ce contact n'est que temporaire et ne persiste pas au cours des derniers stades de l'évolution de la spermatide. Par ailleurs, la travée périphérique se déforme en un bourrelet qui est à l'origine d'un diverticule sous la languette transitoire (voir étude de la languette).

Le reticulum endoplasmique revêt donc de multiples formes dans la spermatide ; quelques plages pourvues de granules ont été observées sur les travées internes de la région postérieure ; les autres différenciations se sont toujours montrées agranulaires. L'ensemble du reticulum se désorganise au cours de la spermiogénèse et il n'en persiste aucune forme reconnaissable dans le spermatozoïde.

VII - L'appareil de Golgi :

Dès l'individualisation des spermatides, une intense multiplication des dictyosomes s'effectue très probablement par fragmentation de saccules allongés (fig. 1, pl. 27). Les dictyosomes sont à ce stade constitués par l'empilement de 4 à 9 saccules de concavité accusée et de 0,7 à 1,3 µ de longueur. Les vésicules sont claires, volumineuses (leur diamètre atteint 0,2 µ) et ne demeurent pas rassemblées au voisinage des saccules. Cette brusque extension de l'appareil de Golgi nous semble en rapport avec la formation d'un gel péricellulaire hyalin, qui isole chaque spermatide

de sa paroi : la coalescence de la paroi des vésicules golgiennes avec le plasmalemme n'a pas été observée, mais la proximité de certaines vésicules et de la membrane ectoplasmique nous paraît un argument en faveur du déversement de leur contenu dans l'espace péricellulaire.

A un stade ultérieur du développement, les dictyosomes sont entourés de très nombreuses vésicules (fig. 1, pl. 28) ; certaines paraissent fusionner entre elles ou avec des vésicules d'origine différente (par exemple, des vésicules isolées du reticulum endoplasmique), constituant ainsi des enclaves qui sont rejetées dans le gel péricellulaire (fig. 1, pl. 28) ou la vésicule basale (pl. 30). L'activité des dictyosomes se réduit, puis ces éléments se désorganisent. Lorsque le noyau a accompli 2 tours de spire, il ne subsiste qu'un petit nombre de dictyosomes peu actifs et de taille réduite dans la partie centrale de la cellule, au voisinage de la vésicule basale. Par la suite, ces dictyosomes disparaissent ; aucun saccule de l'appareil de Golgi n'est reconnaissable dans le spermatozoïde.

L'appareil de Golgi atteint donc une extension maximale au début de l'évolution de la spermatide ; ses productions vésiculaires jouent certainement un rôle déterminant dans la formation du gel péricellulaire et contribuent à la distension de la vésicule basale ; les dictyosomes disparaissent au cours de la spermiogénèse.

IX - Les ribosomes :

Dans la jeune spermatide, les ribosomes sont groupés en ilôts dispersés dans la totalité du cytoplasme ; quelques-uns sont accolés aux travées du reticulum, d'autres sont associés

en polysomes ; occasionnellement, certains ribosomes s'associent en hélices d'aspect identiques à celles observées dans des cellules en voie de différenciation d'origine animale (cellules de l'intestin grêle de foetus de Rat, O.BEHNKE, 1963 ; cellules musculaires de la queue du tétard d'une Grenouille, C.H. WADDINGTON et M.M. PERRY, 1963) ou végétale (cellules mères des grains de pollen d'Ipomoea purpurea, P. ECHLIN, 1965 ; tissus conducteurs d'Acer après incorporation d'isotopes radioactifs, F.B.P. WOODING, 1968).

Les ribosomes persistent durant la spiralisation du noyau et diminuent brutalement en fin d'évolution, au cours de la phase d'élimination du nucléoplasme. La régression du système ribosomial s'effectue selon un processus original : les ribosomes sont rassemblés en amas denses, chaque ilôt est encerclé par une membrane simple (fig. 2, pl. 36), puis plusieurs ensembles identiques sont englobés dans des enclaves de plus grande taille ; leurs membranes respectives y sont progressivement lysés et les ribosomes, mêlés à des fragments de membrane, y sont dispersés. En fin d'évolution, ces enclaves à ribosomes fusionnent avec la vésicule basale.

La diminution progressive de la quantité des ribosomes des spermatides explique celle de la basophilie cytoplasmique mise en évidence depuis longtemps par de nombreux auteurs, surtout au cours de la spermatogénèse animale. A notre connaissance, la seule étude en microscopie électronique qui mentionne ce phénomène chez les Bryophytes est celle de L. GENEVES (1967a et c) ; au cours des derniers stades évolutifs de la spermatide de Polytrichum formosum, l'auteur constate la raréfaction des ribosomes mais ne donne pas de détails sur leur processus d'élimination.

X - Le vacuome et la vésicule basale :

Il n'existe pas dans la spermatide un vacuome comparable à celui des jeunes spermatogomies, constitué de vacuoles non lytiques dérivant principalement de dilatations isolées du reticulum endoplasmique. Dès les premiers stades évolutifs de la cellule, la totalité du vacuome semble être constituée d'enclaves autolytiques. Certaines d'entre elles (comme celle de la fig. 6, pl. 31) accumulent divers éléments isolés de systèmes en voie de régression (principalement reticulum endoplasmique, puis appareil de Golgi) ; d'autres ont un contenu clair mais quelques éléments osmiophiles ou des fragments membranaires y sont souvent visibles et représentent le résultat de la désorganisation de constituants cellulaires.

Lorsque le noyau a accompli plus d'un tour de spire, une vésicule basale se forme au voisinage de la face interne de la spermatide, dans sa région médiane (pl. 30) ; elle résulte, selon toute vraisemblance, de la coalescence de quelques vacuoles autolytiques et de vésicules isolées des canalicules du reticulum ; sa taille s'accroît régulièrement au cours de l'évolution de la cellule et elle reçoit progressivement les éléments en voie de désorganisation qui ne sont pas rejetés dans le gel péricellulaire : c'est ainsi que les parois d'enclaves de diverses origines (vésicules golgiennes, portions de reticulum endoplasmique, quelquefois vésicules mitochondriales, vacuoles autolytiques de petite taille, enclaves à ribosomes dans les derniers stades de l'évolution des spermatides) fusionnent avec la paroi de la vésicule basale et que leur contenu y est déversé. Quelques débris osmiophiles ainsi que des fragments membranaires sont souvent reconnaissables dans cette vésicule, dont le contenu est par ailleurs clair et homogène ; eu égard à la quantité de composés ou de consti-

tuants osmiophiles qui y parviennent, la persistance d'un contenu clair ne peut s'expliquer qu'en supposant le contenu de la vésicule doué de propriétés lysantes. Au cours des derniers stades évolutifs, la vésicule basale occupe une fraction importante du volume cellulaire et seules persistent quelques vacuoles de plus petite taille, à contenu clair.

Le vacuome de la spermatide, constitué en début d'évolution par plusieurs vacuoles autolytiques est représenté au cours des derniers stades évolutifs principalement par une vaste enclave autolytique, la vésicule basale ; cette vésicule assure en partie la transformation des éléments résultant de la désorganisation de certains systèmes cellulaires et l'accumulation des composés qui résultent de cette dégradation ; son contenu est libéré dans le gel péricellulaire par rupture de sa paroi et du plasmalemme au cours de la spermiogénèse. L'évolution que nous venons d'évoquer rend difficile l'adoption de la terminologie proposée par C.N. SUN (1963) qui, chez deux Mousses, nomme "contractile vacuole" une vésicule homologue à la vésicule basale de Pellia.

XI - Les autres constituants vésiculaires du cytoplasme :

Le cytoplasme de la spermatide recèle, en outre, des vésicules à contenu multilamellaire que nous n'assimilons pas au vacuome car, contrairement aux vacuoles, ces formations nécrotiques sont rejetées dans le gel péricellulaire à tous les stades de l'évolution de la cellule et ne constituent donc pas un système permanent. Ces vésicules tirent en général leur origine du corps mitochondrial basal, mais des structures multilamellaires s'édifient aussi dans

le nucléoplasme et parviennent dans le cytoplasme par isolement d'une hernie de la paroi nucléaire ; le plaste ne donne naissance qu'exceptionnellement à des ensembles multilamellaires.

XII - Les oléosomes :

Quelques groupes de 2 ou 3 oléosomes sont visibles dans la jeune spermatide ; ces éléments se rassemblent dans la région postérieure, puis leur taille décroît et ils disparaissent dès les premiers stades de l'étirement du noyau.

XIII - Gel intercellulaire, gel péricellulaire et paroi des spermatides :

Les spermatocytes ovalisés (pl. 23) sont entourés d'un gel intercellulaire homogène qui résulte de la gélification des constituants de la paroi cellulaire des spermatocytes polyédriques. Au moment de leur individualisation, les spermatides baignent dans un gel intercellulaire hétérogène (pl. 26) : celui-ci se présente comme une masse dans laquelle sont en suspension de nombreuses sphérules hyalines ou légèrement osmiophiles, dépourvues de structure et non limitées par une paroi ; la masse est très finement granuleuse par suite du dépôt à son niveau de fins précipités de plomb. Sur coupes histologiques, seule la masse se montre APS positive ; elle contient donc des polysaccharides ; les sphérules sont de nature différente et représentent peut-être les produits de dégradation de lipoprotéines ou de phospholipides rejetés hors de la cellule.

Au moment de l'individualisation des spermatides, une zone hyaline apparaît à la périphérie de la cellule et sépare le plasmalemme du gel intercellulaire (pl. 26). Une zone sombre se différencie à l'extérieur de la zone hyaline ; ces différenciations représentent l'ébauche du gel péricellulaire, hyalin, et d'une coque mucilagineuse commune aux 2 spermatides issues du cloisonnement d'un même spermatocyte. Dans les stades ultérieurs, ces formations se distinguent aisément (fig. 1, pl. 28). La coque mucilagineuse demeure mince, sauf à la périphérie de la cloison mitoyenne où elle s'élargit et fusionne avec celle-ci (fig. 1, pl. 28). Le gel péricellulaire demeure hyalin et des enclaves structurées y sont reconnaissables : c'est dans ce gel que sont rejetées les vésicules mitochondriales et diverses formations nécrotiques évoluant le plus souvent en corps multilamellaires.

Nous avons précédemment mentionné les particularités de l'édification de la cloison mitoyenne et en particulier l'absence de plasmodesmes comme la coque externe. Cette cloison demeure mucilagineuse et il ne semble pas qu'une paroi primaire cellulosique s'y différencie. Gels et paroi conservent les mêmes caractères jusqu'à la fin de l'évolution des spermatides.

XIV - Conclusions :

L'évolution des différents constituants cellulaires de la spermatide aboutit à une spécialisation très accentuée de la cellule. Les premiers stades du développement se caractérisent par une extension considérable de l'appareil de Golgi, la migration du noyau en direction de l'un des

pôles et le groupement de la quasi totalité des constituants cytoplasmiques dans la région opposée au noyau. Dans cette région, les mitochondries fusionnent en un seul Nebenkern, le cinétosome se réplique et une plaquette stratifiée s'édifie sous les deux cinétosomes. La suite du développement met en relief d'une part, le rôle organisateur de ces organites qui apparaissent comme les inducteurs de la différenciation de systèmes tubulaires ou laminaires au sein du cytoplasme (allongement de la plaquette et formation d'une languette), d'autre part, le rôle attractif exercé par les cinétosomes sur le Nebenkern mitochondrial et le noyau. Le plaste exerce aussi une attraction particulière sur le Nebenkern, dont une partie se modèle progressivement à sa surface, et à un moindre titre, sur le reticulum endoplasmique. Cette dernière formation s'organise en travées, canalicules et diverticules, de localisation bien particulière. Il se constitue ainsi deux agrégations essentielles d'organites, l'une dans la région apicale de la spermatide, l'autre dans la région basale.

La migration des cinétosomes s'accompagne d'importantes modifications de la morphologie et de la structure du noyau, dont la chromatine se résoud en fibrilles osmiophiles qui se groupent en faisceaux. Dans les stades ultérieurs du développement de la spermatide, l'étirement du noyau et la migration de la cinétide se poursuivent, alors que diverses régressions affectent presque tous les systèmes cytoplasmiques ; au seuil de la spermiogénèse, le cytoplasme est pratiquement dépourvu de reticulum, de ribosomes et de dictyosomes. La spécialisation intracellulaire est très poussée ; comme le fit remarquer E.J. BONNOT (1967a) dans la spermatide d'une Mousse, nous reconnaissons dans celle de Pellia trois territoires essentiels : "un territoire cinétique à l'origine d'un appareil biflagellé, un territoire trophique comportant des substances de réserve et un appareil de transformation d'énergie en re-

lation structurale avec la cinétide, un territoire génétique à matériel nucléaire modifié dans sa structure et sa répartition".

---oOo---

C H A P I T R E IV

LE SPERMATOZOÏDE

---oOo---

Le meilleur critère permettant de différencier spermatide âgée et spermatozoïde est l'existence d'un noyau dépourvu de zones claires dont la chromatine est de densité élevée. Le spermatozoïde achève de s'édifier au cours de la "spermiogénèse" ; dans son acception la plus étroite, ce terme s'applique à "l'édification des structures propres au spermatozoïde". La spermiogénèse consiste en une différenciation poussée de certains territoires de la spermatide et se manifeste principalement par des régressions qui touchent l'ensemble des systèmes cytoplasmiques.

I - Le noyau :

Le noyau constitue la masse principale du spermatozoïde ; il est enroulé selon une hélice de trois tours et demi dont le diamètre décroît de la région antérieure en direction de la région postérieure et il est dépourvu de nucléoplasme ; la membrane nucléaire persiste chez Pellia (fig.3, pl. 36), contrairement aux observations de L. DIERS (1967) sur le spermatozoïde de Sphaerocarpos donnellii. La techni-

que du double contraste uranyle-plomb densifie très fortement le contenu nucléaire, dans lequel se distinguent surtout les sous-unités sombres et une matrice légèrement moins dense. La proportion de sous-unités sombres est plus importante sous la paroi nucléaire que dans les autres régions du noyau, de sorte qu'à faible grandissement, celle-ci apparaît soulignée du côté interne par un liseré opaque aux électrons analogues au cortex résultant de la fusion des fibrilles chromatiniennes dans les noyaux à contenu moins condensé.

II - Le cytoplasme :

Le cytoplasme a un volume réduit ; il est pratiquement dépourvu de ribosomes ; reticulum endoplasmique et appareil de Golgi n'y sont pas reconnaissables. Après la rupture du plasmalemme au niveau de la vésicule basale, le hyaloplasme se répartit autour du noyau en une mince pellicule, qui s'élargit sur les faces latérales des tours médians en une lame contenant la languette, et sur la face interne du demi tour postérieur en une masse allongée, la vésicule cytoplasmique. Cette vésicule contient le corps basal et plusieurs vacuoles, dont le volume se réduit au cours de la maturation du spermatozoïde ; les tubules de la languette définitive, ainsi que des fragments de tubules y sont visibles ; ces fragments résultent de la rupture des 3 éléments de la languette transitoire sur diverticules non employés pour l'édification de la languette définitive et de celle des tubules de la languette transitoire épinucléaire.

III - Le complexe apical :

Il est constitué de l'agrégation de l'extrémité antérieure (très effilée) du noyau, du corps mitochondrial apical,

des cinétosomes et de la languette définitive. Le corps mitochondrial se trouve sur la gauche de la languette (fig. 3, pl. 37) ; son calibre est réduit ; les crêtes, claires et laminées, se distinguent nettement dans la matrice sombre. La languette se prolonge plus antérieurement que les autres constituants du complexe apical ; à la face inférieure de ce prolongement se trouve une masse sombre qui représente la persistance dans le spermatozoïde de la masse constituée durant les derniers stades de la désorganisation des couches inférieures de la plaquette stratifiée de la spermatide (Sch. 9b). L'existence d'une masse dense aux électrons, occupant la même position dans le spermatozoïde, a été notée par L. DIERS (1967) chez Sphaerocarpos donnellii ainsi que par D.J. PAOLILLO et coll. (1968b) chez Polytrichum formosum.

IV - La languette définitive :

A - Constitution :

La languette définitive du spermatozoïde est constituée de 9 tubules juxtaposés qui s'étendent depuis l'apex de la cellule jusqu'au corps basal postérieur (fig. 3, pl. 37). Nous rappelons que ces tubules sont les 9 tubules S1 de droite de la plaquette stratifiée (voir l'étude de la languette chez la spermatide). La languette définitive persiste durant la vie du spermatozoïde ; d'abord épinucléaire, elle devient latérale dans les 3 derniers tours de spire et la majorité ou la totalité des tubules qui la constituent sont alors contenus dans une expansion cytoplasmique plus ou moins développée située sur la droite du noyau. Cette expansion forme sur le spermatozoïde une sorte

de carène analogue à la membrane ondulante de certains Protozoaires (Trypanosomes par exemple), mais sa hauteur est plus réduite. Dans le dernier demi-tour de spire, les tubules abandonnent la périphérie externe du noyau et se groupent en éventail autour du corps basal, qu'ils enserrent à la façon d'une nasse.

B - Discussion :

a)- La languette définitive des Bryophytes :

La languette définitive du spermatozoïde a suscité de nombreux travaux. Les premiers sont ceux de S. SATÔ ; en 1954, cet auteur rapporte les observations au microscope électronique de montages in toto de spermatozoïdes de Conocephalum conicum. L'action préalable d'ultrasons provoque une dissociation de la cellule qui permet de mettre en évidence 9 ou 10 fibrilles de 200 A° de diamètre ; ces fibrilles se détachent du "blépharoplaste" d'origine et constituent un "filamentous appendage". Le "blépharoplaste" de Conocephalum est le corps mitochondrial apical, le "filamentous appendage" est la languette ; celle-ci est associée au corps mitochondrial apical, mais n'en tire pas son origine. En 1956, S. SATÔ, retrouve une languette chez 8 autres Hépatiques et 2 Anthocérotes.

L. DIERS (1967) met en évidence dans le spermatozoïde de Sphaerocarpos donnellii l'existence d'une "gaine fibrillaire" ("Fibrillenscheide") en forme de U ; cette formation homologue de la languette est constituée d'une série de 12 à 26 tubules ; elle est entourée d'une double membrane et s'étend sur la face dorsale et les faces latérales du spermatozoïde, dont elle ne parcourt vraisemblablement pas toute la longueur. Les tubules extrêmes ont un diamètre de 300 A°, les autres de 180 à 200 A°. Chez Pellia epiphylla, tous les tubules mesurent environ 250 A° de diamètre. La languette définitive n'est pas isolée des autres constituants du spermatozoïde : dans

les 3 derniers tours de spire, elle est incluse dans une expansion cytoplasmique plus ou moins développée. Le spermatozoïde de Sphaerocarpos est actuellement le seul exemple connu d'une languette isolée par une membrane des autres constituants cellulaires.

Chez Marchantia polymorpha, la languette de la spermatide persiste dans le spermatozoïde (Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER, 1968). Le spermatozoïde des Mousses a aussi été étudié ; Miss I. MANTON (1957) met en évidence chez un Sphagnum, l'existence d'un "fibrous band", homologue de la languette, constituée de 4 ou 5 tubules ; D.J. PAOLILLO et coll. (1968b) montrent que le nombre des tubules de la languette du spermatozoïde de Polytrichum juniperinum décroît de 10 dans la partie antérieure de la cellule à 3 dans sa partie postérieure. Le nombre des tubules constituant la languette varie avec le niveau considéré et avec l'espèce ; dans l'état actuel des recherches, il se trouve compris entre 6 (chez Marchantia polymorpha) et 26 (chez Sphaerocarpos donnellii).

b)- Les formations analogues chez d'autres Végétaux :

Des formations analogues à la languette des Bryophytes existent chez d'autres Archégoniates et chez les Algues. F.R. TURNER (1968) caractérise dans le spermatozoïde de Nitella missouriensis (Characées) une bande d'une vingtaine de tubules qui s'étend d'une extrémité à l'autre du gamète, sur la face dorsale de son noyau. Le spermatozoïde de Pteridium aquilinum a été étudié par Miss I. MANTON en 1959 ; chez cette espèce, une bande fibrillaire constituée de nombreux microtubules de 200 A° de diamètre couvre les régions latérales et la face dorsale du noyau. H.V. RICE et W.M. LAETSCH (1967) mettent en évidence dans le spermatozoïde mûr de Marsilea vestita une bande de microtubules à la base des cinétosomes.

K. NORSTOG (1967-1968) décrit chez Zamia integrifolia une longue bande spiralée associée, à partir de son second tour de spire, à une couche monostrate de très nombreux microtubules. Dans tous ces exemples, la bande de tubules est analogue à la languette des Bryophytes, mais atteint un développement beaucoup plus important.

Le rôle de la languette est inconnu et on en est réduit à des suppositions. La languette des spermatozoïdes de Pellia epiphylla est contenue dans une lame cytoplasmique dont la forme rappelle celle d'une membrane ondulante peu développée. Cette expansion semble être observée par E. HEITZ en 1952, après action de l'eau iodée, sur le spermatozoïde de Pellia neesiana ; l'observation vitale ne nous a pas permis de la distinguer chez le spermatozoïde de Pellia epiphylla et nous ne savons donc pas si cette lame est animée d'un mouvement ondulatoire. Par ailleurs, le corps du spermatozoïde de Pellia ne paraît doué d'aucun mouvement propre en observation vitale. Il semble que la possibilité d'un mouvement ondulatoire indépendant du mouvement flagellaire soit l'apanage des spermatozoïdes animaux ; par exemple, le spermatozoïde d'une Planaire étudiée par M. SILVEIRA et K.R. PORTER (1964), possède une gaine de microtubules qui parcourt toute sa longueur et semble impliquée dans le mouvement cndulatoire qui anime le gamète libre. D'autre part, les expériences de S. SATÔ (1954-1958 - dissociation aux ultrasons en particulier) montrent que les tubules de la languette des spermatozoïdes de Bryophytes sont très résistants et doués d'une certaine rigidité : l'hypothèse d'un cytosquelette paraît donc raisonnable. Néanmoins, nous ne pensons pas que la languette de la spermatide soit suffisamment rigide pour servir de guide au cours de l'élongation nucléaire, comme le suggèrent Z.B. CAROTHERS et G.L. KREITNER (1968) ; l'importance de la disproportion entre le volume des tubules et celui du noyau nous incite à écarter provisoirement cette hypothèse.

V - Les flagelles :

D.J. PAOLILLO (1967) met en évidence chez Polytrichum commune l'existence d'une double hélice dans les axonèmes de flagelles provenant de spermatozoïdes mûrs. Chaque hélice est un ruban constitué de 5 fibres et s'enroule autour de la gaine qui entoure les tubules axiaux. Cette formation hélicoïdale n'existe pas dans les flagelles de spermatides.

Nous n'avons observé que des spermatozoïdes supposés mûrs, mais encore contenus dans l'anthéridie. Dans certaines coupes transversales d'axonèmes, la gaine centrale, les rayons d'AFZELIUS et les appendices des doublets périphériques sont plus denses que dans la plupart des coupes de flagelles appartenant à des spermatides, mais les coupes longitudinales n'ont pas permis de mettre en évidence de structure hélicoïdale.

VI - Le corps basal :

Le corps basal tend à se dissocier : sa fraction mitochondriale se lamine fortement et glisse vers la partie antérieure du plaste ; alors, certains lobes mitochondiraux ne sont plus associés au plaste et s'étendent librement dans la région antérieure de la vésicule cytoplasmique, au voisinage de la face interne du noyau. Le plaste se lamine aussi et devient un organite allongé de forme lenticulaire et concave, dont la surface est déformée par les inclusions amylacées ; dans certaines coupes longitudinales, ces inclusions apparaissent alignées comme les grains d'un chapelet (fig. 5, pl. 31).

Les recherches pratiquées sur les spermatozoïdes d'autres Bryophytes montrent l'existence d'un corps basal analogue à celui de Pellia. L. DIERS (1967) reconnaît, dans le "segment cytoplasmique" du spermatozoïde de Sphaerocarpos donnellii, un leucoplaste pourvu d'inclusions amylacées et pratiquement dépourvu de thylacoïdes. A proximité de ce plaste se trouve un élément cellulaire que l'auteur hésite à assimiler à une mitochondrie. D.J. PAOLILLO et coll. (1968b) observent aussi la persistance du corps basal dans la vésicule cytoplasmique ("cytoplasmic remnant") du spermatozoïde de Polytrichum juniperinum ; le plaste demeure sphérique et certains lobes mitochondriaux se séparent du corps mitochondrial basal.

VII - Gel intercellulaire, gel péricellulaire et coque mucilagineuse :

Ces formations conservent les mêmes caractères que dans les spermatides. Le gel péricellulaire reçoit le contenu de la vésicule basale, qui contient peut-être des principes lysants facilitant la désorganisation de la coque mucilagineuse : les gamètes libérés dans les conditions naturelles sont indépendants alors qu'ils demeurent groupés par paires dans une coque si l'on provoque la déhiscence de l'anthéridie en la lésant.

VIII - Conclusion :

Ainsi qu'il a été dit au début de ce court chapitre, la spermiogénèse consiste en une ultime différenciation des organites présents dans les spermatides parvenues au terme de leur évolution. Le noyau paraît ne subir aucune modification.

Le fait essentiel est à notre avis la rupture de la vésicule basale ; cette rupture provoque une nouvelle distribution du hyaloplasme qui se répartit à la périphérie du noyau et des organites figurés de la région postérieure. Aucune des structures membranaires habituelles du cytoplasme ne sont présentes dans le spermatozoïde mûr. Le corps basal subit un début de dissociation, le corps apical ne montre aucune modification ; la cinétide et le corps mitochondrial apical persistent, ainsi que les éléments de la languette définitive qui sont peut-être les homologues d'un cytosquelette. Selon les recherches de L. DIERS (1967) sur Sphaerocarpos donnellii, seuls le noyau et une fraction du hyaloplasme pénètrent dans l'oosphère lors de la fécondation.

*

* *

C I N Q U I E M E P A R T I E

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

---oOo---

Les recherches que nous avons effectuées sur deux Hépatiques Pellia epiphylla (Metzgériale) et Radula complanata (Jungermanniale) permettent de dégager un certain nombre de faits essentiels que nous groupons en trois partie correspondant aux grands chapitres de ce mémoire.

I - L'ergastome :

Nous avons nommé "ergastome" un système structural particulier à la cellule des Hépatiques et dont les éléments, ou "ergastosomes", évoluent finalement en oléocorps. L'ergastome se différencie dans tous les tissus du gamétophyte et du sporophyte, à l'exception du sac sporogène et du tissu spermatogène qui en demeurent dépourvus.

1°)- L'origine et l'évolution :

L'ergastome tire son origine de dilatations localisées du reticulum endoplasmique qui s'isolent par la suite ; leur augmentation de volume s'accompagne de l'accumulation de composés osmiophiles, qui se manifeste d'abord par un léger précipité dans l'enclave, puis par un dépôt périphérique dense aux électrons. Les premiers stades du développement des ergastosomes se caractérisent en outre par la possibilité qu'ont ces enclaves d'incorporer certains globules intracytoplasmiques, qui sont, selon toute vraisemblance, des plastoglobules libérés dans le cytoplasme par les plastes. Ces globules sont à l'origine

des premières inclusions osmiophiles qui apparaissent dans l'ergastosome et participent à l'élaboration de son contenu. Par la suite, les éléments de l'ergastome perdent cette possibilité d'incorporation et élaborent une grande quantité de composés osmiophiles, qui s'accumulent au sein de l'enclave et y apparaissent sous forme d'une substance intersticielle et de globules. Cette élaboration s'accompagne d'une dilatation considérable des ergastosomes.

2°)- L'ergastome et le vacuome :

L'ergastome et le vacuome sont deux systèmes de même origine mais qui évoluent de manière indépendante ; depuis de très jeunes stades, la paroi ergastosomique se distingue du tonoplaste par l'accolement d'un dépôt osmiophile à sa face interne.

3°)- La composition de l'essence extraite du thalle :

Les oléocorps de Pellia ou ceux de Radula contiennent une essence qui a été extraite du thalle. Les essences des deux espèces ont une composition différente ; elles contiennent toutes deux des terpènes, dont certains ont été identifiés ; celle de Radula contient en outre 50 % de méthoxy-3-dibenzyle, composé inconnu jusqu'ici à l'état naturel et dont la synthèse a été réalisée pour la première fois au Laboratoire de Chimie appliquée de la Faculté des Sciences de Bordeaux.

II - La sporogénèse :

1°)- Le rythme des cloisonnements et l'évolution embryologique :

Au terme d'une première phase d'auxesis, des cloisonnements périclines transforment le proembryon en archesporium :

la différenciation des sporocytes et des élatères est précédée d'une phase de meresis, puis d'une nouvelle phase d'auxesis.

2°)- L'évolution histologique :

Durant les phases d'auxesis en particulier, le développement du vacuome dans le proembryon, puis dans l'archesporium, est un caractère qui éloigne les tissus sporophytiques des méristèmes de Phanérogames. La réduction du volume vacuolaire est maximale dans l'archesporium durant la phase de meresis.

3°)- La morphologie cellulaire :

Les cellules archésporiales sont polyédriques ; leur disjonction s'accompagne de la différenciation de deux types de cellules : les sporocytes deviennent globuleux, puis leur cytoplasme se distribue en quatre lobes disposés dans l'espace comme les sommets d'un tétraèdre régulier ; les élatères acquièrent la forme de cylindres de plus en plus étirés.

4°)- L'évolution cytologique :

L'une des phases essentielles de l'évolution cytologique du tissu sporogène est la différenciation de deux types de cellules : les sporocytes, qui subissent la méiose, et les élatères, qui demeurent haploïdes. L'accroissement du volume cellulaire est particulièrement important dans les sporocytes et l'évolution des constituants cytoplasmiques n'est pas identique dans les deux lignées cellulaires.

a)- La disjonction des cellules archésporiales :

Le suc vacuolaire libéré dans l'espace péricellulaire par suite de ruptures localisées du plasmalemme et du tonoplaste, provoque la gélification des constituants de la paroi cellulaire primaire des cellules archésporiales et entraîne leur disjonction. Ce phénomène marque le début de la différenciation des deux lignées cellulaires.

b)- Le vacuome :

Constitué d'enclaves de plus faible taille durant les phases de meresis que pendant celles d'auxesis, le vacuome atteint un développement important dans les cellules archésporiales à un stade précédent leur disjonction ; son volume décroît brusquement par suite des processus mis en jeu au cours de ce dernier phénomène.

Dans les sporocytes, le vacuome joue vraisemblablement un rôle morphogénétique fondamental, l'acquisition de la forme tétralobée de la cellule paraissant liée à la différenciation dans le sporocyte globuleux de quatre zones abondamment pourvues de dilatations du reticulum endoplasmique qui évoluent en vacuoles ; par la suite, la région axiale de chaque lobe demeure plus vacuolisée que la périphérie. Dans les élatères, le volume vacuolaire croît considérablement en fin d'évolution, où quelques vastes vacuoles résultant de la coalescence d'enclaves de plus petite taille, occupent finalement la plus grande partie du volume cellulaire. Dans les spores, les vacuoles sont nombreuses, sphériques et leur contenu devient osmiophile.

c)- Le reticulum endoplasmique :

Le reticulum, agranulaire dans son ensemble, est à l'origine de vacuoles à tous les stades du développement du tissu sporogène. En fin d'évolution des élatères, les travées de ce système se disposent temporairement en manchons concentriques. Dans les spores de Pellia, le reticulum s'organise en nappes pluristratifiées au voisinage de la paroi sporale et des cloisons internes ; ces formations participent à l'édification des structures pariétales et se désorganisent par la suite.

d)- L'appareil de Golgi :

A tous les stades du développement du tissu sporogène, les productions vésiculaires détachées des dictyosomes participent à l'édification des structures pariétales : cloisons cellulaires, paroi sporale, paroi et épaississement spiralé des élatères.

Dans les spores et les élatères, certains dictyosomes émettent de nombreuses vésicules à contenu dense aux électrons ; l'englobement de ces dernières productions par une simple membrane donne naissance à un corps multivésiculaire, qui fusionne par la suite avec le plasmalemme et se transforme ainsi en lomasome. Dans les spores, des dictyosomes émettant des vésicules claires demeurent présents, mais ils sont peu actifs et certains se dissocient. Il est supposé que les vésicules claires contribuent à l'édification de la paroi cellulaire primaire, alors que les vésicules à contenu dense aux électrons prennent part en particulier à l'édification de différenciations pariétales sombres, telles que la lamelle moyenne, la paroi sporale ou l'épaississement spiralé des élatères.

e)- Le plastidome :

Les plastes de Radula sont dépourvus d'amidon ; ceux de Pellia en élaborent à tous les stades ontogéniques du tissu sporogène. Chez Pellia, la réserve amylacée s'accroît considérablement au cours de la sporogénèse et devient maximale dans les spores. La lamellisation ne progresse pas dans les conditions normales jusqu'à une organisation granaire ; dans les spores de Pellia, un début d'organisation granaire se manifeste dans les plastes de capsules maintenues à l'obscurité.

f)- Le chondriome :

Dans les sporocytes et les jeunes élatères, les mitochondries ont une matrice claire et ne présentent pas de traces d'altération ; dans les élatères de Pellia, au cours des derniers stades de l'édification de l'épaississement spiralé, la matrice mitochondriale devient dense aux électrons, les espaces intracristaux demeurant clairs. Cette altération est semblable à celle qui affecte certaines mitochondries des spermatogonies.

g)- Les autres constituants cellulaires :

- Le noyau demeure central dans les sporocytes et subit la méiose ; dans les élatères, il se déforme suivant le sens d'étirement. - Les oléosomes sont abondants à tous les stades de la sporogénèse et particulièrement dans les spores de Radula.

III - La spermatogénèse :

1°)- Le rythme des cloisonnements :

Les premiers cloisonnements du tissu interne de l'anthéridie se succèdent à un rythme rapide et donnent naissance à

des "spermatogonies" ; l'avant-dernière génération, née après une interphase prolongée, constitue les "spermatocytes" ; la dernière génération constitue les "spermatides", qui ne s'individualisent qu'après une longue interphase ; les "spermatozoïdes" sont le terme de l'évolution des spermatides.

2°)- L'évolution histologique :

Lorsqu'il est constitué de spermatogonies, le massif interne de l'anthéridie est un vrai tissu, qui se dissocie durant l'évolution des spermatocytes ; les spermatides issues de leur cloisonnement demeurent groupées par paires, ainsi que les spermatozoïdes.

La disjonction des spermatocytes résulte de modifications cellulaires entraînant la gélification des parois et donnant naissance à un gel intercellulaire. En fin d'évolution de ces cellules, la production d'un gel hyalin péricellulaire repousse le gel intercellulaire ; la zone de contact se différencie en une coque mucilagineuse commune à une paire de spermatides.

3°)- La morphologie cellulaire :

Les spermatogonies et les jeunes spermatocytes sont polyédriques ; ceux-ci s'ovalisent avant l'ultime division. Les jeunes spermatides sont hémisphériques et évoluent en un cordon hélicoïdal par suite de profonds remaniements internes.

4°)- L'évolution cytologique :

Tous les organites cellulaires subissent de profondes modifications, particulièrement dans les spermatocytes et

les spermatides. L'une des phases essentielles de cette évolution cellulaire débute dans les spermatocytes avec la différenciation de cinétosomes et se poursuit dans les spermatides où le développement de l'appareil cinéto-flagellaire conditionne l'évolution du noyau et en partie celle du chondriome. Les diverses transformations se répercutent sur la morphologie de la cellule.

a)- Le vacuome :

Le vacuome demeure constitué d'enclaves de petite taille jusqu'à l'avant-dernier cloisonnement des spermatogonies ; l'expansion de son volume se manifeste dans ces cellules au cours des deux dernières interphases par la formation de nombreuses dilatations localisées du reticulum, qui évoluent en vacuoles autolytiques ; le volume vacuolaire atteint une valeur maximale avant l'ovalisation des spermatocytes, puis décroît brusquement au moment de leur disjonction. Un processus identique à celui mis en évidence lors de l'individualisation des sporocytes et des élatères provoque la condensation du protoplasme des spermatocytes et la formation d'un gel intercellulaire. Dans les spermatides, une vacuole autophagique, la vésicule basale, atteint progressivement une taille considérable ; son contenu est déversé dans le gel péricellulaire au début de la spermiogénèse.

b)- Le reticulum endoplasmique :

Le reticulum est agranulaire dans son ensemble ; les régions granulaires ne sont fréquentes que durant la dernière interphase des spermatogonies ainsi que dans les spermatocytes polyédriques et sont localisées chez les spermatides sur les travées bifurquées de la région postérieure. Le reticulum est à l'origine de vacuoles à tous les stades de l'évolution du

tissu spermatogène. Dans les spermatides, une travée périphérique enveloppant la majeure partie de la cellule se résoud en canalicules dans la région apicale et donne naissance à des diverticules sous certains tubules de la languette transitoire. La désorganisation de l'ensemble du système est achevée au début de la spermiogénèse.

c)- L'appareil de Golgi :

Dans les spermatogonies en cours de bipartition rapide, il contribue à la formation des parois cellulaires. La quantité de vésicules golgiennes s'accroît progressivement au cours de l'évolution des spermatocytes et les dictyosomes se multiplient au début de l'évolution des spermatides. L'appareil de Golgi atteint une extension maximale avant la spiralisation du noyau de la spermatide ; par la suite, les vésicules golgiennes fusionnent avec d'autres éléments et leur contenu est déversé dans la vésicule basale ou dans le gel péricellulaire. Les dictyosomes se désorganisent au cours des dernières phases évolutives des spermatides et ne sont pas reconnaissables dans le spermatozoïde.

d)- Les oléosomes :

Leur nombre demeure toujours faible dans les cellules spermatogènes ; ils disparaissent totalement au cours des derniers stades de l'évolution des spermatides.

e)- Le plastidome :

Les premiers cloisonnements du massif anthéridial s'effectuent dans des cellules pluriplastidiées. Au cours de l'évolution des spermatogonies, le volume de chaque plaste est inversement proportionnel au nombre d'éléments dans

chaque cellule ; ce nombre décroît progressivement car le rythme des bipartitions plastidiales est moins rapide que celui des cloisonnements cellulaires. Les deux dernières générations de spermatogonies n'héritent que de deux plastes qui se bipartissent avant la mitose. Au cours de la dernière interphase, chacun d'eux s'étire en un cordon courbe, aplati et légèrement onduleux, alors que le stroma se densifie.

Les spermatocytes héritent de deux plastes dont l'élongation se poursuit ; au cours de l'ovalisation des cellules, ils se disposent symétriquement par rapport au noyau et ne se bipartissent pas, de sorte que chaque spermatide hérite d'un seul plaste allongé, à stroma dense et granuleux. Dans ces cellules, le plaste devient progressivement globuleux ; il se localise dans la région opposée au noyau et participe à la formation du corps basal.

Le plaste est amylifère à tous les stades de son évolution ; son système lamellaire, demeuré rudimentaire au cours des stades antérieurs, se désorganise dans les spermatides.

f)- Le chondriome :

Les mitochondries des spermatogonies en bipartition active ont une forme souvent globuleuse et une matrice claire. Dans ces cellules, au cours de la dernière interphase, de nombreux éléments subissent une vésiculisation partielle ou totale, tandis que la matrice de certaines mitochondries allongées se densifie. Dans les spermatocytes, tous les éléments du chondriome se vésiculisent ; les altérations les plus prononcées aboutissent à la formation de corps multilamellaires, qui sont éliminés de la cellule. La vésiculisation du chondriome correspond à une dégradation des fonctions oxydatives de ce système.

Les spermatides héritent d'un nombre réduit de mitochondries vésiculisées. Dans ces cellules, les mitochondries se groupent avec les autres éléments cytoplasmiques dans la région opposée au noyau, puis fusionnent en un unique Nebenkern irrégulièrement lobé, à substance matricielle claire. Certains lobes de ce Nebenkern se modèlent sur le plaste ; d'autres se groupent au voisinage des cinétosomes qu'ils suivent dans leur migration, de sorte qu'une partie du Nebenkern s'étire sous la plaquette stratifiée en une longue digitation. Durant cette phase, la matrice mitochondriale s'opacifie. Une rupture de la région moyenne du Nebenkern individualise le corps mitochondrial basal, qui participe à la formation du corps basal, et le corps mitochondrial apical, qui participe à la formation du corps apical.

g)- Le_corps_basal :

Il résulte de l'accolement du corps mitochondrial basal et du plaste. La condensation du chondriome, amorcée dans le Nebenkern, se poursuit dans le corps mitochondrial basal, dont la surface externe se déforme en vésicules à contenu clair qui s'isolent et sont rejetées par la suite ; cette condensation s'effectue à la fois par diminution du volume de la substance matricielle et de celui des crêtes. Des faisceaux de fibrilles relient temporairement les digitations voisines du corps mitochondrial. Le plaste demeure amylifère et se sphérulise ; en fin d'évolution des spermatides, il se déforme en croissant. Le corps basal s'accole alors à la surface interne de la région postérieure du noyau, en général par sa fraction mitochondriale.

h)- Les cinétosomes et la cinétide :

Un cinétosome se différencie dans les spermatocytes ovalisés et se réplique durant leur cloisonnement ; chaque spermatide hérite d'un cinétosome, qui se réplique avant la différenciation de la plaquette stratifiée. Contrairement à ceux des spermatocytes, les cinétosomes des spermatides sont pourvus d'un élément axial. Leurs 9 triplets sont d'abord courts ; certains s'allongent au cours de l'élongation de la plaquette stratifiée et les cinétosomes s'éloignent l'un de l'autre. L'axe du cinétosome postérieur est parallèle aux tubules S1 de la plaquette stratifiée, celui de l'élément antérieur est oblique.

L'élément axial et le tubule externe de chaque triplet ne se poursuivent pas au delà d'une limite qui marque le début de la zone de transition. Celle-ci contient un système de lames denses et 9 doublets périphériques, auxquels s'ajoutent entre autres 2 fibres paraaxiales et une gaine axiale dans l'axonème. Après un trajet intracellulaire, celui-ci se prolonge hors de la cellule dans le gel péricellulaire et apparaît alors enveloppé d'une digitation du plasmalemme.

Les cinétosomes dirigent l'évolution du noyau et en partie celle du chondriome ; ils induisent vraisemblablement la formation de tubules et de diverses structures, en particulier la plaquette stratifiée.

i)- Le noyau :

Les pores de la paroi nucléaire, assez fréquents dans les spermatogonies, se rarifient dans les spermatocytes et n'existent dans les spermatides qu'en fin d'évolution : ils sont alors largement ouverts, groupés en quelques plages dans la région distale du noyau et semblent permettre le passage du

nucléoplasme dans le hyaloplasme. Les abouchements de la paroi nucléaire et du reticulum, rares dans les spermatogonies, sont plus fréquents dans les spermatocytes et les jeunes spermatides, mais disparaissent par la suite. La paroi nucléaire persiste dans la spermatide et le spermatozoïde.

Le noyau occupe une position centrale dans les spermatogonies, les spermatocytes et les jeunes spermatides. Dans les spermatides, il prend d'abord une position excentrique, puis se déforme en direction des cinétosomes et des tubules S1 de la plaquette stratifiée ; enfin, il acquiert progressivement la forme d'un cordon hélicoïdal. La chromatine, qui était disposée en ilôts mal délimités durant les interphases précédentes, s'organise en fibrilles de plus en plus longues dès que la partie antérieure du noyau des spermatides s'étire en cône. Les fibrilles chromatiniennes sont constituées de sous-unités claires ou opaques aux électrons, noyées dans une matrice dense. Certaines fibrilles s'accolent à la paroi nucléaire, puis fusionnent, donnant naissance à un cortex plus riche en sous-unités opaques à sa périphérie externe. Les autres se groupent en faisceaux de plus en plus importants qui fusionnent avec le cortex. La fusion débute dans la région antérieure des fibrilles et se poursuit en direction postérieure ; elle s'accompagne d'une nouvelle disposition des sous-unités, qui demeurent reconnaissables jusque dans le noyau du spermatozoïde. Le nucléoplasme, repoussé en direction postérieure, est complètement éliminé en fin d'évolution.

j)- Le complexe apical :

Il résulte de l'agrégation des cinétosomes, de la plaquette stratifiée puis de la languette, du corps mitochondrial apical, et du noyau.

Après son individualisation, le corps mitochondrial apical subit une évolution semblable à celle du corps mitochondrial basal : il se condense par réduction du volume matriciel et des espaces intracristaux, la matrice se densifie, les crêtes se laminent et l'organite se raccourcit ; en fin d'évolution, il glisse sur le côté gauche de la languette.

La plaquette stratifiée se différencie au-dessous de 2 cinétosomes à triplets courts, au voisinage du plasmalemme de la face dorsale, du noyau, du plaste en voie de condensation et du Nebenkern. Au cours de son élongation en direction du pôle nucléaire, une digitation du Nebenkern s'accole à sa base et atteint son extension maximale au moment de l'individualisation du corps mitochondrial apical. A ce stade, la plaquette stratifiée est un ensemble structural tétrastratifié. La couche supérieure S1 est constituée de 15 tubules parallèles entre eux et au plasmalemme ; chaque tubule est relié à son voisin par une bande et porte à sa partie inférieure une carène bifide. Séparée de S1 par une zone claire, la couche S2 est constituée de plusieurs centaines de plans denses aux électrons séparés par des zones claires et inclinés de 55° d'avant en arrière et de 45° sur l'axe des tubules S1. La couche S3 est constituée du même nombre de plans que S2, mais ceux-ci forment un angle dièdre de 45° avec le plan des tubules S1. La structure de la couche S4 n'est pas clairement définie.

La plaquette stratifiée est un ensemble structural transitoire dont la régression s'effectue en sens inverse de celui de sa formation et débute par la région postérieure de l'organite. La régression consiste en une désorganisation des couches S2 à S4, des carènes et des bandes de liaison. Seuls persistent les tubules S1 dont les prolongements en direction postérieure au delà des couches inférieures de la plaquette constituent la languette transitoire. Il a été distingué dans ce

dernier ensemble une languette épinucléaire constituée des 6 tubules S1 de gauche et une languette sur diverticules constituée à l'origine des 9 autres tubules S1. Cette dernière formation s'étend à la périphérie de la spermatide, entre le plasmalemme et un diverticule issu du reticulum endoplasmique ; dans sa région postérieure, 3 nouveaux tubules viennent s'ajouter aux 9 autres, alors que l'ensemble se scinde en 2 groupes de 6 éléments lorsque le diverticule devient bifide. La réunion en un seul groupe des 9 tubules les plus longs de la languette sur diverticules est à l'origine de la languette définitive du spermatozoïde, dont l'extension est inversement proportionnelle à celle de la languette transitoire. Le recul de celle-ci est liée à celui de la moulure nucléaire qui s'effectue au cours de l'élimination du nucléoplasme. Les fragments des tubules de la languette transitoire non employés pour l'édification de la languette définitive se retrouvent dans la vésicule cytoplasmique du spermatozoïde.

j)- Les autres systèmes cellulaires :

- Les ribosomes, abondants au cours des stades évolutifs antérieurs, sont éliminés dans la vésicule basale en fin d'évolution des spermatides.

- L'existence d'un système en forme de fuseau constitué de microtubules intracytoplasmiques a été remarquée au cours de l'avant-dernière ou la dernière interphase des spermatogonies.

*

* *

B I B L I O G R A P H I E

ALLEN C.E. - 1917a - A chromosome difference correlated with sex difference in Sphaerocarpos.
Science - n.s. 46 ; 466-467.

ALLEN C.E. - 1917b - The spermatogenesis of Polytrichum juniperinum.
Ann. of Bot. 31 ; 269-291 ; pl. 15-16.

ALLEN R.D. - 1968 - A reinvestigation of cross-sections of cilia.
J. Cell Biol. 37 ; 825-831 ; 6 fig.

ANDRE J. - 1959 - Etude au microscope électronique de l'évolution du chondriome pendant la spermatogénèse du Papillon du Chou, Pieris brassicæ.
Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. animale. 12e série ; 1 ; 283-307 ; pl. 1-7.

ANDRÉ J. - 1962 - Contribution à la connaissance du chondriome.
J. Ultrastr. Res. ; suppl. 3 ; 185 p. ; 103 fig.

ARNAUDON M., POUSSEL H. et ROUGIER M. - 1967 - Sur quelques modalités de l'action du diéthyldithiocarbamate de sodium (DEDT-Na) sur la respiration dans les méristèmes radiculaires de divers végétaux. C.R. Soc. Biol. 161 ; 671-675 ; 3 fig.

BEER R. - 1906 - On the development of the spores of Riccia glauca.
Ann. of Bot. 20 ; 275-291 ; pl. 21-22.

BEHNKE O. - 1963 - Helical arragement of ribosomes in the cytoplasm of differenciating cells of the small intestine of rat foetuses.
Exp. cell res. ; 30 ; 597-598 ; 1 fig.

BENNETT H.S. and LUFT J.H. - 1959 - s. collidine as a basis for buffering fixatives.
J. Bioph. Bioch. Cytol. 6 ; 113-114.

BERKALOFF A., BOURGUET J., FAVARD P. et GUINEBAULT M. - 1967 - Biologie et physiologie cellulaire.
Paris ; Hermann éd. ; 322 p. ; 176 fig.

BLAIR Mary C. - 1926 - Sporogenesis in Reboulia hemisphaerica.
Bot. Gaz. 81 ; 377-400 ; 3 fig. ; pl. 30-31.

BONNOT E.J. - 1967a - Le plan d'organisation fondamental de la spermatide de Bryum capillare (L.) Hedw.
C.R. Acad. Sc. Paris, Série D ; 265 ; 958-961 ; 14 fig.

BONNOT E.J. - 1967b - Contributions à l'étude de la spermatogénèse muscinale. I - Le plaste foliacé anthéridial (= limoplaste) de Pogonatum aloides (Hedw.) P. Beauv.
Bull. Soc. bot. Fr. 114 ; 138-144 ; pl. 1-4.

BONNOT E.J. - 1968a - La formation des vacuoles dans les cellules méristématiques du gamétophyte feuillé de Thuidium tamariscinum (Hedw.) B.S.G.
4th Eur. Reg. Conf. Elect. Microsc. Rome ; 409-410 ; 2 fig.

BONNOT E.J. - 1968b - Contribution à la connaissance structurale du gamétophyte feuillé des Bryales.
Thèse Doct. Sc. Nat. Dijon ; 273 p. dactylographiées ; 47 pl.

BOWEN R.H. - 1927 - A preliminary report of the structural elements of the cytoplasm in plant cells.
Biol. Bull. Marine biol. Lab. ; 53 ; 179-196 ; pl. 1.

BRACHET J. and MIRSKY A.E. - 1959-1964 - The cell.
6 vol. Academic Press, New-York and London.

BURGESS J. and NORTHCOTE D.H. - 1967 - A function of the preprophase band of microtubules in Phleum pratense.
Planta ; 75 ; 319-326 ; 9 fig.

BUVAT R. - 1957 - Relations entre l'ergastoplasme et l'appareil vacuolaire.
C.R. Acad. Sc. Paris ; 245 ; 350-352 ; 2 pl.

BUVAT R. - 1961 - Le reticulum endoplasmique des cellules végétales.
Ber. dtsch. bot. Gesells. ; 74 ; 261-267 ; 2 pl.

BUVAT R. - 1968 - Diversité des vacuoles dans les cellules de la racine d'Orge (Hordeum sativum).
C.R. Acad. Sc. Paris ; Série D ; 267 ; 296-298 ; 6 pl.

CAMPAN Colette - 1968 - Etude histologique et cytologique du gynécée et du tissu nectarigène de trois Labiées.
Thèse 3° Cycle Bordeaux n° 578 - 87 p. polycop., 39 pl.

CAMPAN Denise - 1968 - Contribution à l'étude histologique et cytologique du gynécée de trois Boraginacées (Symphytum tuberosum L., S. officinale L. et Borago officinalis L.).
Thèse 3° Cycle Bordeaux n° 579 - 74 p. polycop., 35 pl.

CAMPBELL D.H. - 1928 - The structure and development of Mosses and Ferns.
New-York, Macmillan éd., 3th ed. ; 708 p. ; 322 fig.

CARASSO Nina et FAVARD P. - 1961 - Les ultrastructures cytoplasmiques.
In C. MAGNAN. Traité de microscopie électronique. Paris; Hermann éd. ; 2 ; 901-1117 ; 83 fig. ; 6 pl.

CARBONNIER M.L. et GAVAUDAN P. - 1960 - Le problème des éléoplastes de la cellule des Hépatiques.
C.R. Soc. Biol. 154 ; 1597-1601 ; 3 fig.

CAROTHERS Z.B. and KREITNER G.L. - 1967 - Studies of spermatogenesis in the Hepaticae.
I - Ultrastructure of Vierergruppe in Marchantia.
J. Cell Biol. 33 ; 43-51 ; 15 fig.

CAROTHERS Z.B. and KREITNER G.L. - 1968 - Studies of spermatogenesis in the Hepaticae.
II - Blepharoplast structure in the spermatid of Marchantia.
J. Cell Biol. 36 ; 603-616 ; 21 fig.

CAROTHERS Z.B. and KREITNER G.L. - 1967 - Ultrastructural morphology of the spline-basal body complex in the spermatid of Marchantia polymorpha.
Amer. J. Bot. ; 54 ; 635.

CHADEFAUD M. - 1960 - Traité de Botanique systématique.
Tome I - Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie).
Paris, Masson et Cie éd. ; 1018 p. ; 706 fig.

CHALAUD G. - 1929 - Le cycle évolutif de Fossombronia pusilla Dum.
Thèse Doctorat Sc. Nat. Toulouse ; 343 p. ; 267 fig. ; 7 pl.
in Rev. gén. Bot., 1929 ; 41 et 1930 ; 42.

CHALAUD G. - 1930 - Les derniers stades de la spermatogénèse chez les Hépatiques.
Ann. bryologici, 3 ; 41-50 ; 4 fig.

CHALAUD G. - 1931 - La spermatogénèse chez Lunularia cruciata (L.) Dum.
Travaux cryptogamiques dédiés à Louis MANGIN ; Paris ; 113-126 ; pl. 8-9.

CHAMBERLAIN C.J. - 1903 - Mitosis in Pellia.
Bot. Baz. 36 ; 28-51 ; pl. 12-14.

CHAMBERLAIN C.J. - 1932 - Methods in plant histology.
Chicago ; Chicago Press, 5th ed. ; 416 p. ; 140 fig.

CHATTON E. - 1924 - Sur les connexions flagellaires des éléments flagellés. Centrosomes et mastigosomes. La cinétide, unité cinéto-flagellaire. Cinétides simples et cinétides composées.
C.R. Soc. Biol. Paris ; 91 ; 577-580.

CHEIGNON Madeleine - 1964 - Ultrastructure du gamète mâle d'Ascophyllum nodosum.
C.R. Acad. Sc. Paris ; 258 ; 676-678 ; 17 fig.

CLAPP Grace L. - 1912 - The life history of Aneura pinguis.
Bot. Gaz. 54 ; 177-193 ; pl. 9-12.

COULOMB Claude - 1968 - Mise en évidence de systèmes à fonctions autophagiques dans les méristèmes radiculaires de la Courge (Cucurbita pepo L. Cucurbitacée).
Ann. Sc. Nat. Bot.et Biol. vég. - 12° série ; 9 ; 541-574 ; 9 pl.

COULOMB Claude et BUVAT R. - 1968 - Processus de dégénérescence cytoplasmique partielle dans les cellules de jeunes racines de Cucurbita pepo.
C.R. Acad. Sc. Paris, série D ; 267 ; 843-844 ; 6 pl.

COULOMB P. - 1968 - Sur la présence de structures lamellisées dans les cellules méristématiques du bourgeon de Solanum tuberosum.
C.R. Acad. Sc. Paris, série D ; 267 ; 1373-1374 ; 4 pl.

COULOMB P. - 1969 - Localisation de la désoxyribonucléase acide dans le méristème radiculaire de la Courge (Cucurbita pepo L. Cucurbitacée).
C.R. Acad. Sc. Paris série D ; 269 ; 1514-1516 ; 3 pl.

CRONSHAW J. and ESAU Katherine - 1968 - Cell division in leaves of Nicotiana.
Protoplasma ; 65 ; 1-24 ; 20 fig.

DANGEARD P.A. - 1924 - Sur la reproduction sexuelle chez le Marchantia polymorpha dans ses rapports avec la structure cellulaire.
C.R. Acad. Sc. Paris ; 178 ; 267-271.

DANGEARD P.A. - 1930 - Mémoire sur la terminologie des éléments cellulaires.
Le Botaniste ; 22° série ; 325-389.

DANGEARD P. - 1923 - Recherches de biologie cellulaire - Evolution du système vacuolaire chez les végétaux.
Thèse Paris, et
Recherches sur l'appareil vacuolaire dans les végétaux.
Le Botaniste ; 15° série ; 267 p. ; 14 pl.

DANGEARD P. - 1942 - Recherches sur les modifications du protoplasme dans les conditions permettant la survie de la cellule.
Le Botaniste ; 31° série ; 189-270 ; 14 fig. ; pl. 15-16.

DANGEARD P. - 1947 - Cytologie végétale et cytologie générale.
Paris ; Lechevalier éd. ; 611 p. ; 246 fig.

DANGEARD P. - 1956 - Le vacuome de la cellule végétale. Morphologie.
Protoplasmatologia, Band III/D/1 ; 41 p. ; 26 fig.

DANGEARD P. - 1958 - Le chondriome de la cellule végétale : morphologie du chondriome.
Protoplasmatologia, Band III/A/1 ; 35 p. ; 23 fig.

DAVID R. et CARDE J.P. - 1964 - Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpéniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du réactif nadi.
C.R. Acad. Sc. Paris, 258 ; 1.338-1.340.

DAVIS B.M. - 1901 - Nuclear studies on Pellia.
Ann. of Bot. 15 ; 147-180 ; pl. 10-11.

DIERS L. - 1967 - Der Feinbau des spermatozoids von Sphaerocarpos Donnellii Aust. (Hepaticae).
Planta 72 ; 119-145 ; 33 fig.

DIRKSEN Roter E. and CROCKER T.T. - 1966 - Centriole replication in differenciating ciliated cells of Mammalian respiratory epithelium. An electron microscopic study.
J. microsc. ; 5 ; 629-644 ; 1 fig. : 12 pl.

DOMBRAY P. - 1926 - Contribution à l'étude des corps oléiformes des Hépatiques de la région de Nancy.
Thèse Nancy ; 211 p. ; 11 pl.

DURAND M. et FAVARD P. - 1967 - La cellule.
Paris, Hermann éd. ; 223 p., 74 fig.

ECHLIN P. - 1965 - An apparent helical arrangement of ribosomes in developing pollen mother cells of Ipomoea purpurea (L.) Roth.
J. Cell Biol. ; 24 ; 150-153 ; 4 fig.

EFTIMIU Panca - 1933 - Sur la spermatogénèse chez Bucegia Romanica Radian.
Le Botaniste - 25° série ; 117-136 ; 3 fig. ; pl. 8.

ESCOYEZ E. - 1907 - Blépharoplaste et centrosome dans Marchantia polymorpha.
La cellule, 24 ; 247-256 ; 1 pl.

EYMÉ J. - 1953 - Recherches cytologiques sur les Mousses.
Thèse Bordeaux, in Le Botaniste, 1954, 38° série ; 166 p. ; 29 pl.

EYMÉ J. - 1966 - Infrastructure des cellules nectarigènes de Diplotaxis erucoïdes D.C., Helleborus niger et H.Foetidus L.
C.R. Acad. Sc. Paris, série D, 262 ; 1629-1632 ; 6 pl.

EYMÉ J. - 1967 - Nouvelles observations sur l'infrastructure des tissus nectarigènes floraux.
Travaux de Biologie végétale dédiés au Professeur Pierre DANGEARD ; Le Botaniste, 50° série, 169-183 ; 14 pl.

EYMÉ J. et CAPOT L. - 1954 - Sur la structure de l'anthérozoïde de Sphagnum cymbifolium Ehrh. examiné au microscope électronique.
C.R. Acad. Sc. Paris ; 238 ; 1336-1338 ; 6 fig.

EYMÉ J. et LE BLANC Monique - 1963 - Contribution à l'étude inframicroscopique d'inclusions cytoplasmiques présentes dans les ovules de Ficaria et dans les nectaires d'Helleborus.
C.R. Acad. Sc. Paris, 256 ; 4958-4959 ; 2 pl.

EYMÉ J. et SUIRE C. - 1967 - Au sujet de l'infrastructure des cellules de la région placentaire de Mnium cuspidatum Hedw. (Mousse bryale acrocarpe).
C.R. Acad. Sc. Paris ; Série D ; 265 ; 1788-1791 ; 6 pl.

EYMÉ J. et SUIRE C. - 1969 - Ultrastructure des cellules sporogènes des Mousses : observations sur le plastidome et le chondriome.
C.R. Acad. Sc. Paris ; Série D ; 268 ; 290-293 ; 4 pl.

FAHIMI H.D. et DROCHMANS P. - 1965 - Essais de standardisation de la fixation au glutaraldéhyde.
II - Influence des concentrations en aldéhyde et de l'osmolalité.
J. microsc. 4 ; 737-748 ; 5 pl.

FARMER J.B. - 1893 - On the relation of the nucleus to spore-formation in certain liverworts.
Proc. roy. Soc. London, 54 ; 478-480.

FARMER J.B. - 1895 a - Spore formation and karyokinesis in Hepaticae.
Ann. of Bot. 9 ; 363-364.

FARMER J.B. - 1895 b - On spore-formation and nuclear division in the Hepaticae.
Ann. of Bot. 9 ; 469-523 ; pl. 16-18.

FARMER J.B. - 1895c - Further investigations on spore-formation in Fegatella conica.
Ann. of Bot. 9 ; 666-668.

FARMER J.B. - 1901 - The quadripolar spindle in the spore-mother-cell of Pellia epiphylla.
Ann. of Bot. 15 ; 431-433.

FARMER J.B. - 1904 - On the interpretation of the quadripolar spindle in the Hepaticae.
Bot. Gaz. 37 ; 63-65.

FARMER J.B. and REEVES J. - 1894 - On the occurence of centrospheres in Pellia epiphylla, Nees.
Ann. of Bot. 8 ; 219-224 ; pl. 14.

FIGIER J. - 1968 - Etude infrastructurale et cytochimique des glandes pétiolaires de Mercurialis annua L. Essai d'interprétation en rapport avec la sécrétion.
C.R. Acad. Sc. Paris, série D ; 267 ; 491-494 ; 1 fig. ; 6 pl.

FIGIER J. - 1969 - Incorporation de glycine-^{3}H chez les glandes pétiolaires de Mercurialis annua L. Etude radioautographique en microscopie électronique.
Planta, 87 ; 275-289 ; 10 fig.

FLORIN R. - 1919 - Cytologische Bryophytenstudien.
I - Über Sporenbildung bei Chiloscyphus polyanthus (L.) Corda.
Arch. för Bot., 15 ; n° 16 ; 10 p. ; 2 fig. ; 1 pl.

FLORIN R. - 1924 - Zytologische Bryophytenstudien.
III - Die Entwicklungsgeschichte des Sporophyten und die Sporogenese bei Riccardia pinguis (L.) B.Gr. Arch. för Bot., 18 ; n° 5 ; fig. 17-25 ; 1 pl.

GABE M. - 1968 - Techniques histologiques.
Paris, Masson éd. ; V + 1113 p.

GALL J.G. - 1961 - Centriole replication. A study of spermatogenesis in the snail Viviparus.
J. Bioph. Biochem. Cytol. ; 10 ; 163-193 - 46 fig.

GARJEANNE A.J.M. - 1903 - Die Olkörper der Jungermanniales.
Flora, 92 ; 457-482 ; 18 fig.

GAVAUDAN P. - 1927 - Sur l'origine et les caractères des éléments oléifères des Jungermanniales.
C.R. Acad. Sc. Paris, 184 ; 1473-1475.

GAVAUDAN P. - 1928a - Sur les rapports du vacuome et du système oléifère des Jungermanniacées.
C.R. Acad. Sc. Paris, 186 ; 163-166 ; 4 fig.

GAVAUDAN P. - 1928 b - Sur la présence du système oléifère dans les organes de multiplication des Jungermanniacées.
C.R. Acad. Sc. Paris, 186 ; 886-888.

GAVAUDAN P. - 1930 - Recherches sur la cellule des Hépatiques.
Thèse Paris.
Le Botaniste 1931 ; Série 22 ; 105-294 ; 24 fig. ; 6 pl.

GAVAUDAN P., POUSSEL Hélène et GUYOT M. - 1960 - Production expérimentale dans la cellule végétale anoxique de "nebenkerns" ergastoplasmiques.
C.R. Acad. Sc. Paris, 250 ; 4029-4031 ; 11 fig.

GAVAUDAN P., POUSSEL H., FUSTEC-MATHON E. et BENISEAU-BOSCHER J. - 1962 - Ergastoplasme, sécrétion glandulaire et respiration cellulaire chez les Végétaux.
C.R. 87e Congr. Soc. Sav. Poitiers, Section Sciences. Paris ; Gauthier-Villars éd. 1963 ; 941-955 ; 6 fig.

GENEVÈS L. - 1966a - Vésicules golgiennes, pellicule ectoplasmique et réseau fibrillaire au cours de l'édification de la membrane sporale chez Hypnum rusciforme.
Résumé communication Colloque Soc. fr. Microsc. électron. Bordeaux 23-25 mai 1966, in J. Microscopie 1966 ; 5 ; n° 3 ; 52a-53a.

GENEVÈS L. - 1966b - Sur la structure et le comportement des plastes dans le tissu sporogène au cours de sa prolifération chez Hypnum rusciforme.
C.R. Acad. Sc. Paris, 262 ; 2215-2218 ; 6 pl.

GENEVÈS L. - 1967a - Evolution comparée des ultrastructures nucléaires et des ribosomes cytoplasmiques au cours de la maturation des spermatozoïdes de Polytrichum formosum (Bryacées).
C.R. Acad. Sc. Paris, Série D ; 265 ; 602-605 ; 6 pl.

GENEVÈS L. - 1967b - Sur le groupement des plastes et des mitochondries pendant la différenciation du spermatozoïde de Polytrichum formosum (Bryacées).
C.R. Acad. Sc. Paris ; Série D ; 265 ; 1679-1682 ; 6 pl.

GENEVÈS L. - 1967c - Transformations de l'appareil nucléaire et régression des ribosomes cytoplasmiques pendant la spermatogénèse de Polytrichum formosum.
Résumé des communications du Colloque de Bruxelles in J. Microscopie ; 6 ; n° 4 ; 55a.

GENEVÈS L. - 1968 a - Centrioles, flagelles et tubules périnucléaires dans les spermatides de Polytrichum formosum (Bryacées).
Résumé communication Colloque Microsc. électron. Lille 17-20 mai 1968, in J. Microscopie ; 7 ; n° 4 ; 37a.

GENEVÈS L. - 1968b - Modalités de l'édification de l'appareil flagellaire des spermatozoïdes de Polytrichum formosum (Bryacées).
C. R. Acad. Sc. Paris ; Série D ; 267 ; 849-852 ; 6 pl.

GENEVÈS L. - 1969a - Répartition de l'activité de la phosphatase acide dans le tissu sporogène d'Hypnum rusciforme en rapport avec son évolution, à l'échelle des ultrastructures.
C. R. Acad. Sc. Paris, série D ; 269 ; 1066-1069 ; 4 pl.

GENEVÈS L. - 1969b - Etude infrastructurale de l'activité phosphatasique acide dans le sporogone d'un Hypnum.
Résumé communication Colloque microsc. électron. Lausanne 19-21 mai 1969, in J. microscopie ; 8 ; n° 4 ; 53 a.

GIBBONS I.R. - 1967 - The structure and composition of cilia.
Symposia Internation. Soc. cell Biol. Vol. 6 ; Academic Press ; New-York and London ; 99-113 ; 12 fig.

GIBBONS I.R. and BRADFIELD J.R.G. - 1957 - The fine structure of nuclei during sperm maturation in the locust.
J. Biophys. Biochem. Cytol. ; 3 ; 133-140 ; pl. 23-25.

GIBBONS I.R. and GRIMSTONE A.V. - 1960 - On flagellar structure in certain Flagellate.
J. Bioph. Bioch. Cytol.; 7 ; 697-716 ; 4 fig. ; pl. 349-358.

GRAHAM Margaret - 1913 - Studies in nuclear division of Preissia commutata.
Ann. of Bot. 27 ; 661-679 ; pl. 54-55.

GRASSE P.P., CARASSO Nina et FAVARD P. - 1956 - Les ultrastructures cellulaires au cours de la spermiogénèse de l'escargot (Helix pomatia L.) : évolution des chromosomes, du chondriome, de l'appareil de Golgi, etc ...
Ann. Sc. Nat. ; Zool. ; 11° série ; 18 ; 339-380 ; 12 pl. ; 9 fig.

GRÉGOIRE V. et BERGHS J. - 1904 - La figure achromatique dans Pellia epiphylla.
La Cellule, 21 ; 191-239 ; 2 pl.

GUIGNARD L. - 1889 - Développement et constitution des anthérozoïdes.
II - Muscinées.
Rev. gén. Bot. 1 ; 63-70 ; pl. 3-4.

GUILLERMOND A. et MANGENOT G. - 1923 - Observations cytologiques sur le mode de formation des essences.
C.R. Acad. Sc. Paris, 177 ; 600-603 ; 8 fig.

GUYOT M. - 1962 - Evolution des éléoplastes et multiplication végétative chez les Hépatiques.
C.R. 87° Congr. Soc. Sav. Poitiers ; 913-919 ; 10 fig.

HAMANT C. - 1953 - Recherches cytologiques sur la reproduction de quelques espèces du genre Mnium.
Thèse Paris ; 116 p. ; 19 pl.

HAUPT A.W. - 1921 a - Gametophyte and sex organs of Reboulia hemisphaerica.
Bot. Gaz. 71 ; 61-74 ; 21 fig.

HAUPT A.W. - 1921b - Embryogeny and sporogenesis in Reboulia hemisphaerica.
Bot. Gaz. 71 ; 446-453 ; 11 fig. ; pl. 33.

HAUPT A.W. - 1926 - Morphology of Preissia quadrata.
Bot. Gaz. 82 ; 30-54 ; 6 fig. ; pl. 1-2.

HÉBANT C. - 1969 - Elaborations membranaires et processus de dégénérescence cytoplasmique au cours de la différenciation des hydroïdes dans la tige feuillée de Polytrichum commune L. et P. juniperinum Willd (Mousses Polytrichales).
C.R. Acad. Sc. Paris série D ; 269 ; 1951-1954 ; 4 pl.

HEDWIG J. - 1782 - Fundamentum Historiae Naturalis Muscorum frondosorum concernens eorum flores, fructus, seminale propagationem ...
1 ; XXIII + 112 p., 10 pl. 2 ; XI + 107 p., 10 pl. - Leipzig.

HEITZ E. - 1952 - Über eine Spiralstruktur im dem Spermatozoid von Pellia neesiana.
Experientia, 8 ; 462-463 ; 1 fig.

HEITZ E. - 1959 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen über zwei auffallende Strukturen an der Geisselbasis der Spermatiden von Marchantia polymorpha, Preissia quadrata, Sphaerocarpus Donnellii, Pellia Fabroniana (Hepaticae).
Ztsch. Naturforsch. Série B ; 14 ; 399-401 ; 19 fig.

HEITZ E. - 1960 - Über die Geisselstruktur sowie die Dreiergruppe in den Spermatiden der Leber. und Laubmoose.
Proceed. Europ. Reg. Conf..Electr. Micros. Delft ; 2 ; 934-937 ; 7 fig.

HOLLE G. von - 1857 - Über die Zellenbläschen der Lebermoose.
Heidelberg ; 26 p. ; 1 pl.

HORNER H.T., LERSTEN N.R. et BOWEN C.C. - 1966 - Spore development in the liverwort Riccardia pinguis.
Amer. J. Bot. 53 ; 1048-1064 ; 42 fig.

HÜBENER I.W.P. - 1834 - Hepaticologia germanica.
Mannheim (Cité d'après

HUMPHREY H.B. - 1906 - The development of Fossombronia longiseta Aust.
Ann. of Bot. ; 20 ; 83-108 ; 8 fig. ; pl. 5-6.

HUNECK S. - 1963 - Zur Chemie der Moose.
I - Die erstmalige Isolierung eines natürlich vorkommenden Azulens aus Calypogeia Trichomanis (L.) Corda.
Ztschr. Naturf. ; série B ; 18 ; 1126.

HUNECK S. und KLEIN E. - 1967 - Inhaltsstoffe der Moose.
III - Über die vergleichende gas-und dünnschichtchromatographische Untersuchung der ätherischen Öle einiger Lebermoose und die Isolierung von (-)-Longifolen und (-)-Longiborneol aus Scapania undulata (L.) Dum.
Phytochemistry ; 6 ; 383-390 ; 9 fig.

IKENO S. - 1903a - Beiträge zur Kenntniss des planzenlichen Spermatogénèse : Die Spermatogénèse von Marchantia polymorpha.
Bhft. Bot. Centrlbl. 15 ; 65-88 ; pl. 3.

IKENO S. - 1903b - La formation des anthérozoïdes chez les Hépatiques.
C.R. Acad. Sc. Paris ; 136 ; 628-629.

IKENO S. - 1905 - Are the centrosomes in the antheridial cells of Marchantia polymorpha imaginary ?
Bot. Mag. 19 ; 111-112.

JOHNSON D.S. - 1929 - Development of antheridium and spermatozoïd in Plagiochila adiantoides Lindb. (Swartz).
Bot. Gaz. 88 ; 38-62 ; 4 fig. ; pl. 1-3.

JONES E.W. - 1965 - Miss G. Wigglesworth's observations on the oil-bodies of Calypogeia trichomanis.
Trans. brit. bryol. Soc. 4 ; 830-831.

JÓNSSON S. - 1963 - Données récentes sur l'ultrastructure des plastes, des mitochondries et de l'appareil de Golgi chez les Végétaux eucaryotes chlorophylliens.
L'année biol. ; 2 ; 207-255 ; 32 fig.

JOVET-AST Suzanne - 1948 a - Contribution à l'étude des ocelles et des oléocorps de quelques Hépatiques africaines.
C.R. Acad. Sc. Paris, 226 ; 2001-2002.

JOVET-AST Suzanne - 1948b - Remarques sur les oléocorps et les ocelles de quelques Hépatiques du Congo.
Rev. Bryol. Lichén. 17 ; 35-39 ; 12 fig.

JOVET-AST Suzanne - 1949 - Contribution à l'étude des oléocorps des Hépatiques.
Rev. Bryol. Lichén. 18 ; 43-44 ; 2 fig.

KAY D.H. - 1965 - Techniques for electron microscopy.
Oxford ; 2nd ed., Blackwell Scientific Publications ;
XIV + 560 p.

KOEHLER J.K. - 1965 - An electron microscope study of the dimorphic spermatozoa of Asplanchna (Rotifera).
I - The adult testis.
Ztschr. Zellforsch. mikros. Anat. 1965 ; 67 ; 57-76 ; 16 fig.

KOZLOWSKI A. - 1921 - Sur l'origine des oléoleucites chez les Hépatiques à feuilles.
C.R. Acad. Sc. Paris, 173 ; 497-499 ; 6 fig.

KREITNER G.L. - 1967 - Ultrastructural aspects of the spermatid-spermatozoid transformation in Marchantia polymorpha.
Amer. J. Bot. ; 54 ; 635.

KÜSTER W. von - 1894 - Die Oelkörper der Lebermoose und ihr Verhältnis zu den Elaioplasten.
Inaug.-Dissert., Basel ; 43 p. ; 1 pl.

LECLERC DU SABLON M. - 1885a - Recherches sur le développement du sporogone des Hépatiques.
Ann. Sc. Nat. Bot. 2 ; 126-180 ; pl. 7-11.

LECLERC DU SABLON M. - 1885b - Sur le développement du sporogone du Frullania dilatata.
Bull. Soc. Bot. Fr. 7 ; 187-191.

LEHMANN H. - 1968 - Die Bildung der Zellplate bei Riella helicophylla.
Ber. dtsch. bot. Gesells. ; 81 ; 317-318 ; pl. 17.

LEITGEB H. - Untersuchungen ueber die Lebermoose.
I Heft : Blasia pusilla. Jena 1874 ; 82 p. ; 5 pl.
2 Heft : Die foliosen Jungermannieen. Jean 1875 ; 95 p. ; 12 pl.
3 Heft : Die frondosen Jungermannieen. Jean 1877 ; 144 p. ; 9 pl.
4 Heft : Die Ricciеen. Graz 1879 ; 101 p. ; 9 pl.
5 Heft : Die Anthoceroteen. Graz 1879 ; 60 p. ; 5 pl.
6 Heft : Die Marchantieen. Graz 1881 ; 158 p. ; 11 pl.

LICHTENTHALER H.K. und PEVELING E. - 1967 - Plastoglobuli in verschiedenen Differenzierungsstadien der Plastiden bei Allium cepa L. Planta, 72 ; 1-13 ; 8 fig.

LICHTENTHALER H.K. und SPREY B. - 1966 - Über die osmiophilen globulären Lipideinschlüsse der Chloroplasten. Ztschr. Naturforsch. 21 b ; 690-697 ; 3 tab. ; 8 fig. ; 6 pl.

LINDBERG S.O. - 1862 - Ueber das Vörkommen von aetherischen Oelen in Leber-Moosen. Flora, 45 ; 545-546.

LOHMANN C.E.J. - 1903 - Beitrag zur Chemie und Biologie der Lebermoose. Bhft. bot. Centrlbl., 15 ; 215-256.

LUFT J.H. - 1956 - Permanganate - A new fixative for electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol. 2 ; 799-801.

LUFT J.H. - 1961 - Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9 ; 409-414.

MANTON Irène - 1964 - The possible significance of some details of flagellar bases in plants. J. roy. microsc. Soc., série 3 ; 82 ; 279-285 ; 1 fig. ; pl. 76-79.

MANTON Irène - 1957 - Observations with the electron microscope on the cell structure of the antheridium and spermatozoid of Sphagnum. J. Exp. Bot. ; 8 ; 382-400 ; 51 fig.

MANTON Irène - 1959a - Observations on the microanatomy of the spermatozoid of the bracken fern (Pteridium aquilinum). J. Biophys. Biochem. Cytol. ; 6 ; 413-418 ; pl. 196-207.

MANTON Irène and CLARKE B. - 1952 - An electron microscope study of the spermatozoïd of Sphagnum.
J. Exp. Bot. ; 3 ; 265-275 ; 9 pl.

MARCHANT R. and ROBARDS A.W. - 1968 - Membrane systems associated with the plasmalemma in plant cells.
Ann. of Bot. 32 ; 457-471 ; 2 fig. ; 3 pl.

MARTINEZ MARTINEZ P. et DAEMS W.T. - 1968 - Les phases précoces de la formation des cils et le problème de l'origine du corpuscule basal.
Ztschr. Zellfors. mikros. Anat. 87 ; 46-68 ; 21 fig.

MASER M.D., POWELL T.E. III and Ch. W. PHILPOTT - 1967 - Relationships among pH, osmolality, and concentration of fixative solutions.
Stain Technol. 42 ; 175-182 ; 11 fig.

MAZLIAK P. - 1968 - Le métabolisme des lipides dans les plantes supérieures.
Monographies de Physiologie végétale. Paris. Masson et C° éd. ; 223 p. ; 66 fig. ; 45 tabl.

MELIN E. - 1915 - Die Sporogenese von Sphagnum squarrosum (Pers.) Nehteinigen Bemerkungen über das Antheridium von Sphagnum acutifolium (Ehrh.).
Svensk. Bot. Tidsk. 9 ; 261-293 ;

MEUCHE Doris und HUNECK S. - 1966 - Inhaltsstoffe der Moose.
II - Azulene aus Calypogeia Trichomanis (L.) Corda.
Chem. Ber. ; 99 ; 2669-2674 ; 3 fig.

MEYER K. - 1911 - Untersuchungen über den Sporophyt der Lebermoose.
I - Entwickelungsgeschichte des Sporogon der Corsinia marchantioides.
Bull. Soc. Impér. Nat. Moscou, 25 ; 263-286 ; 22 fig. ; pl. 7.

MEYER K. - 1913 - Untersuchungen über den Sporophyt der Lebermoose.
II - Die Entwicklungsgeschichte des Sporogons bei Plagiochasma.
Bull. Soc. impér. Nat. Moscou, 27 ; 597-615 ; 16 fig. ; pl. 29.

MEYER K. - 1914 - Untersuchungen über den Sporophyt der Lebermoose.
III - Das Sporogonium der Corsinia marchantioides Raddi.
Ber. dtsch. bot. Gesells., 32 ; 262-266 ; 4 fig.

MEYER K. - 1929 - Untersuchungen über den Sporophyt der Lebermoose.
IV - Die Entwicklung des Sporogons bei Fegatella conica.
Planta, 8 ; 36-54 ; 36 fig.

MICHAELIS L. - 1931 - Der Acetat-Veronal-Puffer.
Biochem. Ztschr., 234 ; 139-141.

MILLONIG G. - 1961 - Advantages of a phosphate buffer for OsO4 solutions in fixation.
Proc. Annual Meeting Electron Microsc. Soc. America, 23-26.
Aug. 1961 in J. applied Physics, 32 ; 1637.

MILLONIG G. and MARINOZZI V. - 1968 - Fixation and embedding in electron microscopy.
Adv. opt. electr. microsc. 2 ; 251-341 ; 49 fig.

MIRBEL M. - 1835 - Recherches anatomiques et physiologiques sur le Marchantia polymorpha pour servir à l'histoire du tissu cellulaire, de l'épiderme et des stomates.
Mém. Acad. Roy. Sc. Instit. France, 13 ; 337-373.
- Complément des observations sur le Marchantia polymorpha ...
Id. 375-428 ; pl. 1-8.

MIRIMANOFF A. - 1939 - Contribution à l'étude des corps oléifères des Hépatiques.
Ber. schweiz. bot. Gesells., 49 ; 400-404 ; 4 fig.

MISUKAMI I. and GALL J. - 1966 - Centriole replication.
II - Sperm formation in the Fern, Marsilea, and the Cycad Zamia.
J. Cell Biol. 29 ; 97-111; 31 fig.

MIYAKE K. - 1905 - On the centrosome of Hepaticeae.
Bot. Mag. 19 ; 98-101.

MOORE A.C. - 1903 - The mitoses in the spore mother-cell of Pallavicinia.
Bot. Gaz. 36 ; 384-388 ; 6 fig.

MOORE A.C. - 1905 - Sporogenesis in Pallavicinia.
Bot. Gaz. 40 ; 81-96 ; pl. 3-4.

MOTTE J. - 1928 - Contribution à la connaissance cytologique des Muscinées.
Thèse Paris, in Ann. Sc. Nat. Bot., 10° série ; 10 ; 293-543 ; 11 pl.

MÜLLER K. - 1905 - Beitrag zur Kenntnis der ätherischen Öle bei Lebermoosen.
Hoppe-Seylers Ztschr. Physiol. Chem. ; 45 ; 299-319.

MÜLLER K. - 1939 - Untersuchungen über die Ölkörper der Lebermoose.
Ber. dtsch. bot. Gesells., 57 ; 326-370 ; pl. 14-15.

NEVINS Beatrice I. - 1932 - Cytological studies on the antheridia of Sphaerocarpos Donnellii.
La Cellule, 41 ; 293-334 ; pl. 1-3.

NORSTOG K. - 1967 - Fine structure of the spermatozoid of Zamia with special reference to the flagellar apparatus.
Amer. J. Bot. ; 54 ; 831-840 ; 17 fig.

NORSTOG K. - 1968 - Fine structure of the spermatozoid of Zamia. Observations on the microtubule system and related structures. Phytomorphology, 18 ; 350-356 ; 14 fig.

NOVIKOFF A.B. and SHIN W.Y. - 1964 - The endoplasmic reticulum in the Golgi zone and its relations to microbodies, Golgi apparatus and autophagic vacuoles in rat liver cells. J. Microscopie ; 3 ; 187-206 ; 13 pl.

OURISSON G. et CRABBÉ P. - 1961 - Les triterpènes tétracycliques. Actualités Scientifiques et Industrielles 1287. Paris ; Hermann éd. ; 194 p.

PAOLILLO D.J.- 1965 - On the androcyte of Polytrichum, with special reference to the Dreiergruppe and the limosphere (Nebenkern). Canadian J. Bot., 43 ; 669-676 ; 16 fig.

PAOLILLO D.J. - 1967a - On the structure of the axoneme in flagella of Polytrichum juniperinum. Trans. amer. microsc. Soc., 86 ; 428-433 ; 12 fig.

PAOLILLO D.J. - 1967b - Maturation of sperm cells in Polytrichum. Amer. J. Bot. ; 54 ; 643.

PAOLILLO D.J., KREITNER G.L. and REIGHARD Judith A. - 1968a - Spermatogenesis in Polytrichum juniperinum. I - The origin of the apical body and the elongation of the nucleus. Planta 78 ; 226-247 ; 36 fig.

PAOLILLO D.J., KREITNER G.L. and REIGHARD Judith A. - 1968b - Spermatogenesis in Polytrichum juniperinum. II - The mature sperm. Planta 78 ; 248-261 ; 16 fig.

PASQUET Bernadette - 1968 - Histologie et Cytologie de l'apex et de l'appareil nectarifère de quelques Crucifères.
Thèse 3° Cycle Bordeaux, n° 585 - 79 p. polycop., 28 pl.

PFEFFER W. - 1874 - Die Oelkörper der Lebermoose.
Flora, 57 ; 2-6, 17-27, 33-43 ; pl. 1.

PICKETT-HEAPS J.D. and NORTHCOTE D.H. - 1966a - Organization of microtubules and endoplasmic reticulum during mitosis and cytokinesis in wheat meristems.
J. Cell Sci. ; 1 ; 109-120 ; 23 fig.

PICKETT-HEAPS J.D. and NORTHCOTE D.H. - 1966b - Cell division in the formation of the stomatal complex of the young leaves of wheat.
J. Cell Sci. ; 1 ; 121-128 ; 17 fig.

PIHAKASKI Kaarina - 1966 - An electron microscope study on the oil bodies of two Hepatic species.
Protoplasma, 62 ; 393-399 ; 9 fig.

PIHAKASKI Kaarina - 1968 - A study of the ultrastructure of the shoot apex and leaf cells in two liverworts, with special reference to the oil-bodies.
Protoplasma, 66 ; 79-103 ; 28 fig.

POPOVICI H. - 1927 - Quelques remarques sur les élaïoplastes des Hépatiques.
C.R. Acad. Sc. Paris, 185 ; 77-80 ; 14 fig.

POUX Nicole - 1963 - Sur la présence d'enclaves cytoplasmiques en voie de dégénérescence dans les vacuoles des cellules végétales.
C.R. Acad. Sc. Paris ; 257 ; 736-738 ; 7 fig.

QUILLET M. - 1956a - Sur le métabolisme glucidique des Bryophytes. Présence de polyfructosides dans certains groupes d'Hépatiques.
C.R. Acad. Sc. Paris, 242 ; 2475-2478.

QUILLET M. - 1956b - Sur le métabolisme glucidique des Hépatiques : Jungermanniales et Marchantiales.
C.R. Acad. Sc. Paris, 242 ; 2656-2658.

RATTRAY - 1886 - Observations on the oil-bodies of the Jungermannieae.
Trans. bot. Soc. Edinburgh ; 16 ; 123-128.

REYNOLDS E.S. - 1963 - The use of lead citrate at hight pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.
J. Cell Biol., 17 ; 208-212 ; 3 fig.

RICE H.A. and LAETSCH W.M. -1967 - Observations on the morphology and physiology of Marsilea sperm.
Amer. J. Bot. 54 ; 856-866 ; 25 fig.

RICHARDS J.H. and HENDRICKSON J.B. - 1964 - The biosynthesis of steroids, terpenes, and acetogenins.
In "Frontiers in Chemistry" ; W.A. Benjamin Inc.
New-York, Amsterdam ; 416 p.

RINGO D.L. - 1967 - The arrangement of subunits in flagella fibers.
J. Ultrastr. Res., 17 ; 266-277 ; 12 fig.

RIVETT M.F. - 1918 - The structure of the cytoplasm in the cells of Alicularia scalaris, Cord.
Ann. of Bot., 32 ; 207-214 ; 3 fig. ; pl. 6.

ROUGIER-PAGANEL M., ARNAUDON A. et POUSSEL H. - 1964 - Inhibition de la respiration des racines de Triticum vulgare par le diéthyldithiocarbamate (DDC) de sodium et modifications cytoplasmiques induites dans les cellules méristématiques.
C.R. Soc. Biol. 158 ; 1719-1721 ; 3 pl.

SABATINI D., BENSCH K., and BAARNETT R.J. - 1963 - Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation.
J. Cell. Biol., 17 ; 19-58 ; 38 fig.

SAPEHIN A.A. - 1911 - Über das Verhalten der Plastiden im sporogenen Gewebe.
Ber. dtsch. bot. Gesells. ; 29 ; 491-496 ; 5 fig.

SAPEHIN A.A. - 1913a - Untersuchungen über die Individualität der Plastide.
Ber. dtsch. bot. Gesells. ; 31 ; 14-16 ; 1 fig.

SAPEHIN A.A. - 1913b - Ein Beweis der Individualität der Plastide.
Ber. dtsch. bot. Gesells. ; 31 ; 321-324 ; pl. 14.

SAPEHIN A.A. - 1915 - Untersuchungen über die Individualität der Plastide.
Arch. Zellsforsch. ; 13 ; 319-398 ; pl. 10-26.

SATÔ S. - 1951 - Electron microscopical studies on reproductive cells of plant. II - Structure of spermatozoids of Marchantia polymorpha and Isoetes japonica.
Cytologia, 16 ; 153-163 ; 13 fig.

SATÔ S. - 1954 - On the filamentous appendage, a new fine structure of the spermatozoid of Conocephalum conicum disclosed by means of the electron microscope.
J. Hattori bot. Lab., 12 ; 113-115 ; 5 fig.

SATÔ S. - 1956 - The filamentous appendage in the spermatozoids of Hepaticae as revealed by the electron microscope.
Bot. Mag. 69 ; 435-438 ; pl. 9-10.

SATÔ S. - 1958 - Electron microscopical and cytochemical studies on the spermatozoid of Conocephalum conicum.
J. Fac. Sc. Univ. Tokyô, section III ; 7 ; 257-269 ; pl. 1-6.

SATÔ S. - 1962 - Electron microscope studies on the cell structure during spermiogenesis in Conocephalum conicum.
J. Hattori bot. Lab., 25 ; 154-162 ; 11 fig.

SCHAFFNER J.H. - 1908 - The centrosomes of Marchantia polymorpha.
Ohio Nat., 9 ; 383-388 ; pl. 21.

SCHOTTLÄNDER P. - 1893 - Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen bei Kryptogamen.
Beitrage zur Biologie der Pflanzen. ; 6 ; 267-304 ; pl. 4-5.

SHARP L.W. - 1920 - Spermatogenesis in Blasia.
Bot. Gaz., 69 ; 258-268 ; pl. 15.

SILVEIRA Marina and PORTER K.R.- 1964 - The spermatozoids of flatworms and their microtubular systems.
Protoplasma, 59 ; 240-265 ; 17 fig.

SINOIR Y. - 1950 - Evolution de la structure nucléaire au cours de la spermiogénèse chez Marchantia polymorpha (L.) Dum.
C.R. Acad. Sc. Paris, 231 ; 1539-1540.

SLAVÍK B. - 1950 - Specific bodies in the cells of Hepatics (Hepaticae).
Stud. Bot. Cechoslovaca, 11 ; 226-244 ; 1tab. ; 21 fig.

SÖRENSEN S.P.L. - 1909 - Ergänzung zu der Abhandlung : Enzymstudien II : Über dei Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen.
Biochem. Ztschr., 22 ; 352-356.

SRINIVASAN K.S. - 1944 - The developmental morphology and cytology of Marchantia palmata.
J. Madras Univ., 15 ; 101-132 ; 178 fig.

SPREY B. und LICHTENTHALER H.K. - 1966 - Zur Frage der Beziehungen zwischen Plastoglobuli und Thylakoidgenese in Gerstenkeimlingen.
Ztschr. Naturforsch., série B, 21 ; 697-699 ; 2 fig.

STRASBURGER E. - 1869-70 - Die Geschelechtorgane und die Befruchtung bei Marchantia polymorpha L.
Jahrb. wissensch. Bot., 7 ; 409-422 ; pl. 27-28.

SUIRE C. - 1964 - Une méthode de double inclusion au collodion-paraffine.
P.V. Soc. Lin. Bordeaux, 101 ; 83-86.

SUIRE C. - 1966 - Contribution à la connaissance cytologique de quelques Hépatiques.
Thèse S° Cycle, Bordeaux, n° 438 ; 107 p. ; 4 fig. ; 14 pl.

SUN C.N. - 1963 - Fine structure of the spermatozoid of two mosses with special reference to the so-called "Nebenkern".
Protoplasma ; 58 ; 663-666 ; 9 fig.

TERZAKIS J.A. - 1968 - Uranyl acetate, a stain and a fixative.
J. Ultrastr. Res. 22 ; 168-184 ; 13 fig.

TOURTE Y. et HUREL-PY Germaine - 1967 - Ontogénie et ultrastructure de l'appareil cinétique des spermatozoïdes de Pteridium aquilinum.
C.R. Acad. Sc. Paris, série D ; 265 ; 1289-1292 ; 3 pl.

TURNER F.R. - 1968 - An ultrastructural study of plant spermatogenesis. Spermatogenesis in Nitella.
J. Cell Biol., 37 ; 370-393 ; 30 fig.

VAZART B. - 1963 - Différenciation des cellules sexuelles et fécondation chez les Cryptogames.
Protoplasmatologia, 7 ; 3/b ; 363 p. ; 122 fig.

VAZART Jacqueline - 1956a - Etude cytologique de la reproduction sexuée chez quelques Ptéridophytes.
Thèse Paris et Rev. Cytol. Biol. vég., 17 ; 263-431 ; 28 pl.

VAZART Jacqueline - 1956b - L'appareil cinétique chez les Protistes et dans le règne végétal.
Bull. Soc. Bot. de France. ; 103 ; 162-221 ; 5 fig.

VAZART Jacqueline - 1964 - Données sur le développement et l'infrastructure de l'appareil cinétique dans les spermatides de Polypodium vulgare.
C.R. Acad. Sc. Paris, 259 ; 631-634 ; 4 pl.

VAZART Jacqueline - 1965 - Régression des chloroplastes et modification de leur infrastructure dans l'anthéridie du Polypode.
Rev. Cytol. Biol. vég. 28 ; 1-14 ; 1 fig. ; 12 pl.

VERDIER J.L. - 1965 - Contribution à l'étude au microscope électronique des propagules de Lunularia cruciata (L.) Dum.
Rev. Cytol. Biol. vég., 28 ; 279-301 ; 11 pl.

VIAN B. - 1969 - Recherches sur l'évolution des substances intercellulaires au cours de la spermatogénèse chez une Hépatique, Fossombronia angulosa.
Résumé communication Colloque microsc. électron. Lausanne 19-21 mai 1969, in J. Microscopie ; 8 ; n° 4 ; 90a.

VIAN Brigitte - 1970 - Observations sur l'évolution des substances intercellulaires pendant la spermatogénèse chez une Hépatique, Fossombronia angulosa. C.R. Acad.Sc. Paris série D ; 270 ; 1240-1243 ; 4 pl.

WADDINGTON C.H. and PERRY M.M. - 1963 - Helical arrangement of ribosomes in differenciating muscle cells.
Exp. Cell Res. ; 30 ; 599-600 ; 1 fig.

WAKKER J.H. - 1888 - Studien über die Inhaltskörper der Pflanzenzellen.
Jahrb. wissensch. Bot., 19 ; 423-496 ; pl. 12-15.

WATSON M.L. - 1958 - Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals.
J. Bioph. Biochem. Cytol., 4 ; 475-478 ; pl. 226-229.

WEIER T.E. - 1930 - A study of the moss plastid after fixation by mitochondrial, osmium and silver techniques.
I - The plastid during sporogenesis in Polytrichum commune.
La Cellule 40 ; 259-290 ; 4 fig. ; 4 pl.

WEIER T.E. - 1931 - A study of the moss plastid after fixation by mitochondrial, osmium and silver techniques.
II - The plastid during spermatogenesis in Polytrichum commune and Catharinea undulata.
La Cellule 41 ; 49-85 ; 2 fig. ; 3 pl.

WILSON M. - 1911 - Spermatogenesis in the Bryophyta.
Ann. of Bot., 25 ; 415-457 ; pl. 37-38.

WOODBURN W.L. - 1911 - Spermatogenesis in certain Hepaticae.
Ann. of Bot., 25 ; 299-313 ; pl. 25.

WOODBURN W.L. - 1913 - Spermatogenesis in Blasia pusilla.
Ann. of Bot., 27 ; 93-101 ; pl. 11.

WOODBURN W.L. - 1922 - Spermatogenesis in Asterella hemis-hemisphaerica Beauv.
Ann. of Bot. 36 ; 535-539 ; pl. 20.

WOODING F.B.P. - 1968 - Ribosomes helices in mature cells.
J. Ultrastr. Res. ; 24 ; 157-164 ; 9 fig.

YAZAWA H. - 1931 - On the spermatogenesis in Makinoa crispata (St.) Miyake.
Cytologia ; 2 ; 157-173 ; 36 fig.

ZACHARIAS E. - 1881 - Ueber die Spermatozoiden.
Bot. Zeit. ; 39 ; 827-838.

ZOTTL P. - 1963 - Über die elektive Anfärbung der Ölkörper von Lebermoosen durch Methylrot.
Protoplasma 57 ; 800-816 ; 3 fig. ; 5 tab.

ZWICKEL W. - 1932 - Studien über die Ocellen der Lebermoosen.
Bhft. bot. Centrlbl., 49 ; 569-648 ; 8 fig.

*

* *

TABLE DES MATIERES

Pages

PREMIERE PARTIE : INTRODUCTION ET TECHNIQUES.

CHAPITRE I - INTRODUCTION 5

I - L'ergastome 5
II - La sporogénèse 7
III - La spermatogénèse 9

CHAPITRE II - TECHNIQUES UTILISEES 15

I - Techniques utilisées pour l'étude en microscopie photonique 15

1°)- L'ergastome 15
2°)- La sporogénèse 16
3°)- La spermatogénèse 16

II - Techniques utilisées pour l'étude en microscopie électronique 17

1°)- Remarques sur les méthodes de fixation 17
2°)- Techniques de fixation utilisées 21
A - Les éléments de l'ergastome 21
B - Les étapes de la sporogénèse 23
C - Les étapes de la spermatogénèse 23
3°)- Déshydratation et inclusion 23
A - La déshydratation 24
B - Le passage à la résine d'inclusion 24
C - La polymérisation 25
4°)- Confection et traitement des coupes 25
5°)- Les électromicrographies 26

SECONDE PARTIE : L'ERGASTOME.

INTRODUCTION 29

I - REMARQUES SUR LA TERMINOLOGIE 29

II - TRAVAUX ANTERIEURS 31

CHAPITRE I - RECHERCHES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE 37

I - Etude de Radula complanata 37

II - Exemple de Pellia epiphylla 42

1°)- Les cellules du thalle 42

2°)- La spore 42

CHAPITRE II - RECHERCHES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE..... 43

I - Etude de Radula complanata 43

1°)- Les stades évolutifs de l'ergastome 43

2°)- Rôle des plastoglobules dans la genèse de l'ergastome 48

3°)- Intervention de constituants autres que les plastoglobules au cours de la genèse de l'ergastome 52

4°)- Constitution de l'oléocorps de Radula complanata .. 52

A - Recherche de polyphénols 53

B - Recherche de polysaccharides 53

C - Caractérisation d'une essence 53

D - Nature de la substance interstitielle de l'oléocorps 56

E - Composition chimique de l'essence extraite du thalle 56

5°)- Vacuome et ergastome 60

II - Exemple de Pellia epiphylla 61

1°)- Evolution de l'ergastome 61

2°)- Constitution chimique de l'essence extraite du thalle 62

CHAPITRE III - CONCLUSIONS ET DISCUSSION 63

I - CONCLUSIONS 63

II - DISCUSSION 64

1°)- Origine de l'ergastome 64

A - Origine plastidiale 64

B - Origine vacuolaire 65

C - Origine purement cytoplasmique 65

2°)- Présence d'une membrane externe 66

3°)- Constitution chimique de l'essence extraite du thalle 68

TROISIEME PARTIE : LA SPOROGENESE.

INTRODUCTION 73

I - Recherches cytologiques effectuées en microscopie photonique sur la sporogénèse des Hépatiques 73

II - Recherches ultrastructurales sur la sporogénèse des Bryophytes 75

CHAPITRE I - RECHERCHES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE 77

I - La sporogénèse chez Pellia epiphylla 77

1°)- L'archesporium 77

2°)- Evolution de la zone sporogène 78

3°)- Constitution de l'élatérophore et évolution des élatères 79

4°)- Evolution des sporocytes 81

II - La sporogénèse chez Radula complanata 82
1°)- L'archesporium 82
2°)- Evolution des élatères 82
3°)- Evolution des sporocytes 83

III - Remarques 83
1°)- Comparaison avec les Mousses 83
2°)- Ségrégation et différenciation des deux lignées cellulaires 84

CHAPITRE II - RECHERCHES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE CHEZ PELLIA EPIPHYLLA 87

I - Les cellules du proembryon 87
II - La différenciation du sac sporogène 88
III - L'évolution des élatères 90
1°)- Les premiers stades de l'évolution des élatères 90
2°)- Les derniers stades de l'évolution des élatères ... 92

IV - L'évolution des sporocytes 94
1°)- Le plastidome 95
2°)- Le chondriome 98
3°)- Le reticulum endoplasmique 98
4°)- L'appareil de Golgi 98
5°)- Les ribosomes et les oléosomes 98
6°)- La paroi 98

V - L'évolution des spores 99
1°)- La paroi sporale 99
2°)- Les cloisons internes 100
3°)- Le reticulum endoplasmique 101
4°)- L'appareil de Golgi 104
5°)- Corps multivésiculaires et lomasomes 105
6°)- Le plastidome 106

CHAPITRE III - OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE CHEZ RADULA COMPLANATA 107

I - La différenciation des deux lignées cellulaires. 107
II - L'évolution des sporocytes 108
III - La spore 109
IV - L'évolution des élatères 109

CHAPITRE IV - SYNTHESE ET DISCUSSION 111

1°)- La constitution du sac sporogène 111
2°)- La différenciation des deux lignées cellulaires : sporocytes et élatères 112
3°)- L'évolution des sporocytes 112
4°)- L'évolution des élatères 113
5°)- Les spores 113
6°)- Le plastidome 113
7°)- Le chondriome 114
8°)- Le reticulum endoplasmique 114
9°)- L'appareil de Golgi 114
10°)- Le cytoplasme 115

QUATRIEME PARTIE - LA SPERMATOGENESE.

- INTRODUCTION :

I - Principaux travaux effectués en microscopie photonique sur la spermatogénèse des Hépatiques 119

II - Travaux effectués en microscopie électronique sur la spermatogénèse des Bryophytes 120

III - Observations effectuées en microscopie photonique sur le développement de l'anthéridie et la spermatogénèse chez Pellia epiphylla 128

IV - Observations effectuées à l'aide du microscope électronique sur la spermatogénèse de Pellia epiphylla ... 128

CHAPITRE I - LA SPERMATOGONIE 129

I - Première phase : maintien du nombre des plastes 129

1°)- Le plastidome 129

2°)- Le noyau interphasique 130

A - Le nucléole 130

B - La chromatine 130

C - La paroi nucléaire 130

3°)- Le chondriome 131

4°)- L'appareil de Golgi 131

5°)- Les ribosomes 131

6°)- Le reticulum endoplasmique 131

7°)- Les oléosomes 132

II - Seconde phase : réduction du nombre des plastes 132

1°)- Le plastidome 132

2°)- Le chondriome 134

3°)- Le reticulum endoplasmique 137

4°)- Le vacuome 137

5°)- L'appareil de Golgi et les ribosomes 137

6°)- Présence d'un système microtubulaire intracytoplasmique 138

7°)- Le phragmoplaste et la formation des cloisons cellulaires 141

III - Conclusions 142

CHAPITRE II - LE SPERMATOCYTE 145

I - Le spermatocyte à noyau interphasique 145

1°)- Le noyau 145

2°)- Le plastidome 146

A - Modifications structurales intervenant avant la disjonction des spermatocytes 146

a)- Modifications morphologiques 146

b)- Modifications du système lamellaire.... 146
c)- Modification du stroma 146

B - Modifications intervenant au cours de l'ovalisation des cellules 147

3°)- Le chondriome 147
4°)- Le reticulum endoplasmique 150
5°)- Le vacuome 153
6°)- Les autres constituants cytoplasmiques 156
7°)- La disjonction des spermatocytes et la formation du gel intercellulaire 156
8°)- Les variations d'osmiophilie des inclusions amylacées 157

II - Le cloisonnement des spermatocytes 158
1°)- La mitose et le retour du noyau à la structure interphasique 159
2°)- Les microtubules du fuseau mitotique 160
3°)- Les extrusions nucléaires 160
4°)- Les autres constituants cytoplasmiques 162
5°)- La plaque cellulaire 163

III - La différenciation de cinétosomes 164

IV - Conclusions ;..... 167

CHAPITRE III - LA SPERMATIDE 169

I - Constitution de la spermatide au moment de son individualisation 169

II - Evolution générale du noyau, du plaste, du chondriome et de la cinétide dans la spermatide 170

III - Le noyau 178
1°)- La paroi nucléaire 179
2°)- Fragmentation et disparition du nucléole 179

3°)- Modification de la structure de la chromatine 179
4°)- La structure fine des fibrilles chromatiniennes ... 180
5°)- L'individualisation, le groupement et la fusion des fibrilles chromatiniennes 180
6°)- L'élimination du nucléoplasme 182
7°)- Discussion 182
A - La paroi nucléaire 182
B - L'organisation fibrillaire de la chromatine ... 183
C - Relation possible entre la structure des fibrilles chromatiniennes et leur composition chimique 184
D - Relation entre les fibrilles chromatiniennes et les chromonémas 184
8°)- Conclusions 185

IV - Le complexe apical 185
1°)- La région antérieure du noyau 186
2°)- Le corps mitochondrial apical 187
3°)- Les cinétosomes et les flagelles 187
A - Structure des cinétosomes 189
B - Disposition relative des deux cinétosomes sur la plaquette stratifiée allongée 191
C - Passage à la structure flagellaire 196
D - Structure du flagelle 196
4°)- La plaquette stratifiée 197
A - Nomenclature 197
B - Formation et évolution 197
C - Structure au moment de son extension maximale . 199
D - Régression 201
E - Conclusions 202

F - Discussion 203
a)- Le complexe apical chez les Bryophytes . 203
1 - Le noyau 203
2 - Le Nebenkern et le corps mitochondrial apical 203
3 - Le cinétosome 204
4 - La plaquette stratifiée 205
b)- Les formations analogues chez les Ptéridophytes et les Préphanérogames 207
V - La languette 208
1°)- Formation et évolution 208
2°)- Discussion 224
A - La languette des Bryophytes 224
B - Les formations analogues chez d'autres Végétaux 225
VI - Le corps basal 226
1°)- Formation 226
2°)- Nomenclature utilisée 227
3°)- Structure et évolution 228
A - Le corps mitochondrial basal 228
B - Le plaste 229
C - Les rapports entre les constituants du corps basal 230
D - Les rapports entre le corps basal et d'autres constituants cellulaires 230
4°)- Discussion 230
VII- Le reticulum endoplasmique 233
VIII - L'appareil de Golgi 237
IX - Les ribosomes 238
X - Le vacuome et la vésicule basale 240
XI - Les autres constituants vésiculaires du cytoplasme .. 241

XII - Les oléosomes 242

XIII - Gel intercellulaire, gel péricellulaire et paroi des spermatides 242

XIV - Conclusions 243

CHAPITRE IV - LE SPERMATOZOIDE 247

I - Le noyau 247

II - Le cytoplasme 248

III - Le complexe apical 248

IV - La languette définitive 249

A - Constitution 249

B - Discussion 250

a)- La languette définitive des Bryophytes 250

b)- Les formations analogues chez d'autres Végétaux . 251

V - Les flagelles 253

VI - Le corps basal 253

VII - Gel intercellulaire, gel péricellulaire et coque mucilagineuse 254

VIII - Conclusions 254

CINQUIEME PARTIE : CONCLUSIONS GENERALES.

I - L'ERGASTOME 259

II - LA SPOROGENESE 260

III - LA SPERMATOGENESE 264

BIBLIOGRAPHIE.

SCHEMAS INCLUS DANS LE TEXTE :

1 - Evolution des substances osmiophiles dans l'ergastosome de Radula complanata 46

2 - Chromatogrammes obtenus à partir de l'essence extraite du thale de Radula complanata 56

3 - Jeune sporocyte de Pellia epiphylla 96

4 - Spore de Pellia epiphylla. Reconstitution schématique des différenciations du reticulum au voisinage d'une cloison interne 102

5 - Evolution du noyau, de la cinétide, du plastidome et du chondriome dans les spermatocytes et les spermatides de Pellia epiphylla 172

6 - Reconstitution schématique du cinétosome postérieur de la spermatide de Pellia epiphylla 192

7 - Formation et régression de la plaquette stratifiée des spermatides de Pellia epiphylla 192

8 - Evolution du complexe apical dans la spermatide de Pellia epiphylla 210

9 - Reconstitution schématique du complexe apical de la spermatide de Pellia epiphylla 235

10 - Reconstitution schématique des différenciations périphériques du reticulum endoplasmique dans la spermatide de Pellia epiphylla 235

37 PLANCHES HORS TEXTES.

*

* *

PLANCHES

Planche 1

Fig. 1 - Radula complanata - Jeune périanthe. Observation vitale G = × 2.000

L'ergastosome (E) apparaît comme un sac hyalin plissé. (ol), oléosome ; (p), plaste.

Fig. 2 - Radula complanata - Cellule d'une jeune feuille après coloration vitale au Rouge neutre. G = × 2.000.

La vacuole (v) est colorée ; l'ergastosome (E) est un sac plissé réfringent. (ol), oléosome ; (p), plaste.

Fig. 3 - Radula complanata - Assise externe de la coiffe d'une capsule. Observation vitale. G = × 2.000

Les ergastosomes (E) sont des sacs allongés. (ol), oléosome ; (p), plaste.

Fig. 4 - Radula complanata - Cellule foliaire. Observation vitale. G = × 2.000.

(E), jeune ergastosome ; (E'), ergastosome évolué (oléocorps) ; (ol), oléosome ; (p), plaste.

Fig. 5 - Radula complanata - Massif apical. Fixation selon Champy ; coloration : hématoxyline. G = × 2.000.

(E), ergastosome peu évolué ; (E'), oléocorps ; (ol), oléosome ; (p), plaste.

Fig. 6 - Pellia epiphylla - Spore pluricellulaire. Observation vitale. G = × 2.000.

(E), ergastosome ; (ol), oléosome ; (p), plaste amylifère.

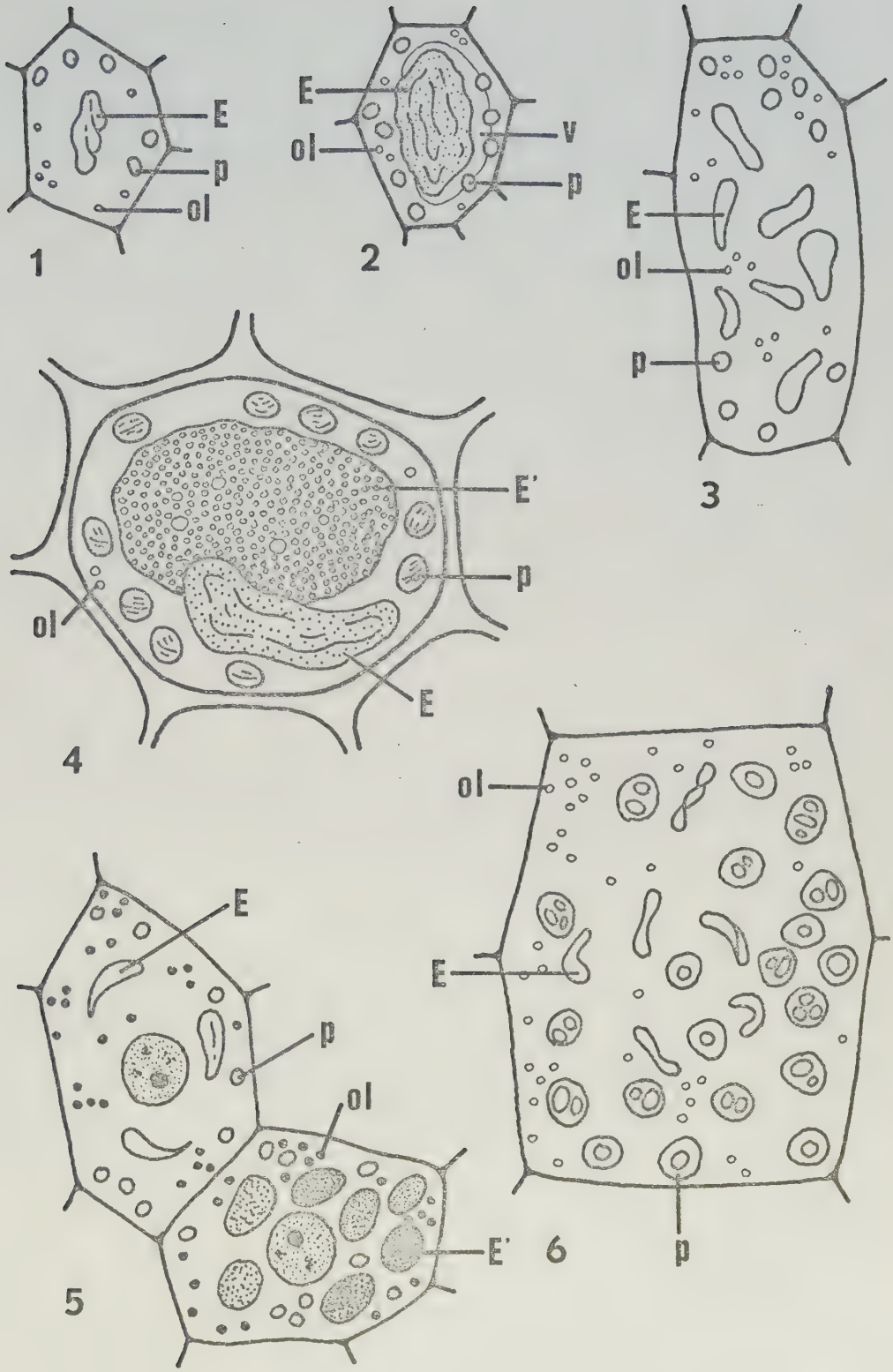

E
p
ol
1
E
ol
v
p
2
E
ol
p
3
E'
p
ol
E
4
ol
E
p
6
E
p
ol
E'
5

Planche 2

Divers stades de l'évolution du tissu sporogène chez Pellia epiphylla.

Fixation selon Champy ; coloration hématoxyline.

Fig. 1 - G = × 2.000.

Archesporium durant la phase de meresis. (N), noyau ; (ol), oléosome ; (p), plaste ; (v), vacuole.

Fig. 2 - G = × 2.000.

Archesporium durant la phase d'auxesis. Remarquer le développement important du vacuome. (N), noyau ; (ol), oléosome ; (p), plaste ; (v), vacuole.

Fig. 3 - G = × 2.000.

Différenciation des élatères et des sporocytes. (él), coupe transversale d'un élatère ; (sp), coupe d'un sporocyte globuleux. Remarquer la persistance de la lamelle moyenne (lm) au sein du gel intercellulaire. (N), noyau ; (ol), oléosome ; (p), plaste.

Fig. 4 - G = × 1.200.

Capsule préméiotique.

4a - élatère.

4b - sporocyte tétralobé.

(N), noyau ; (ol), oléosome ; (p), plaste.

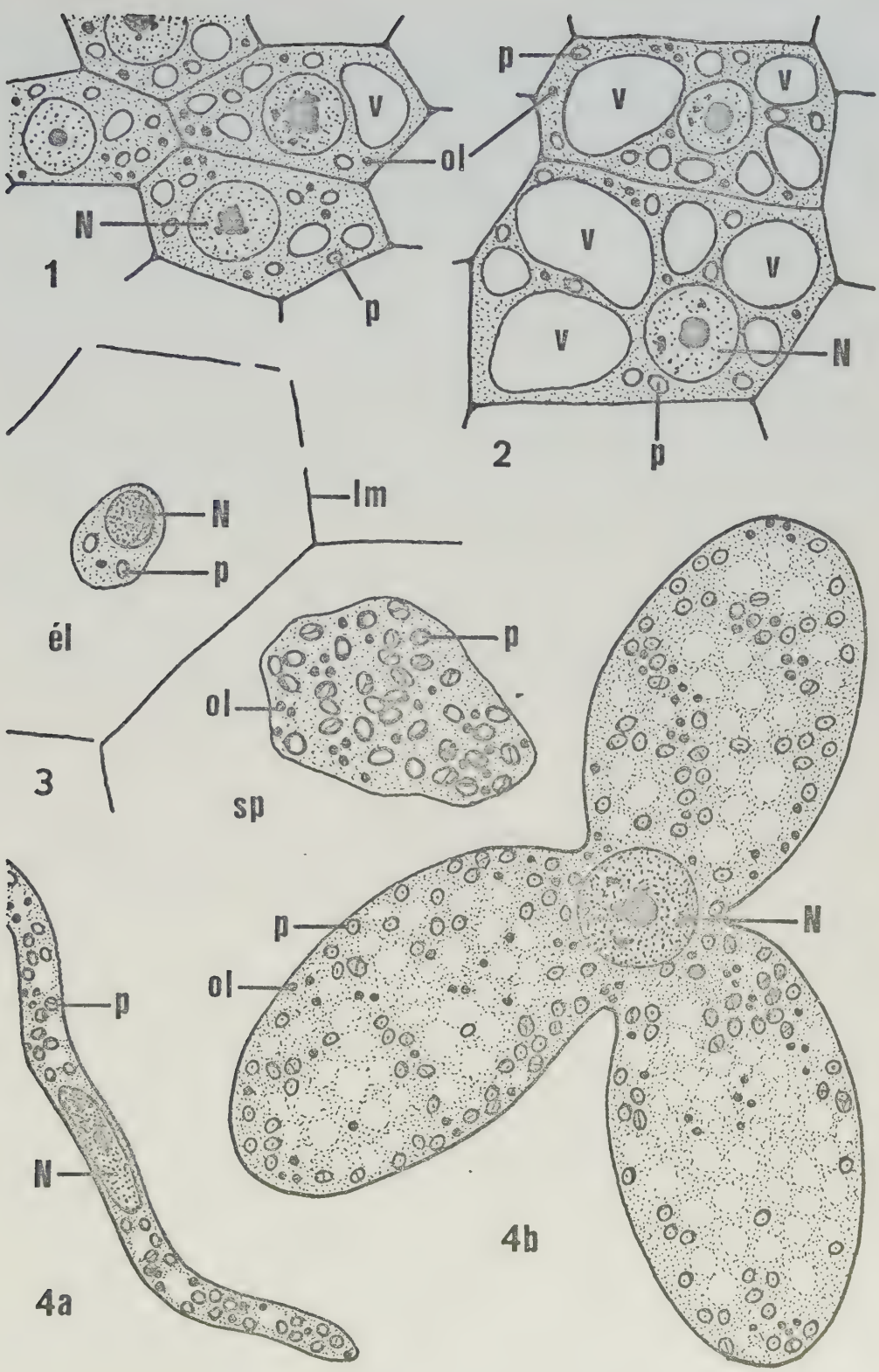
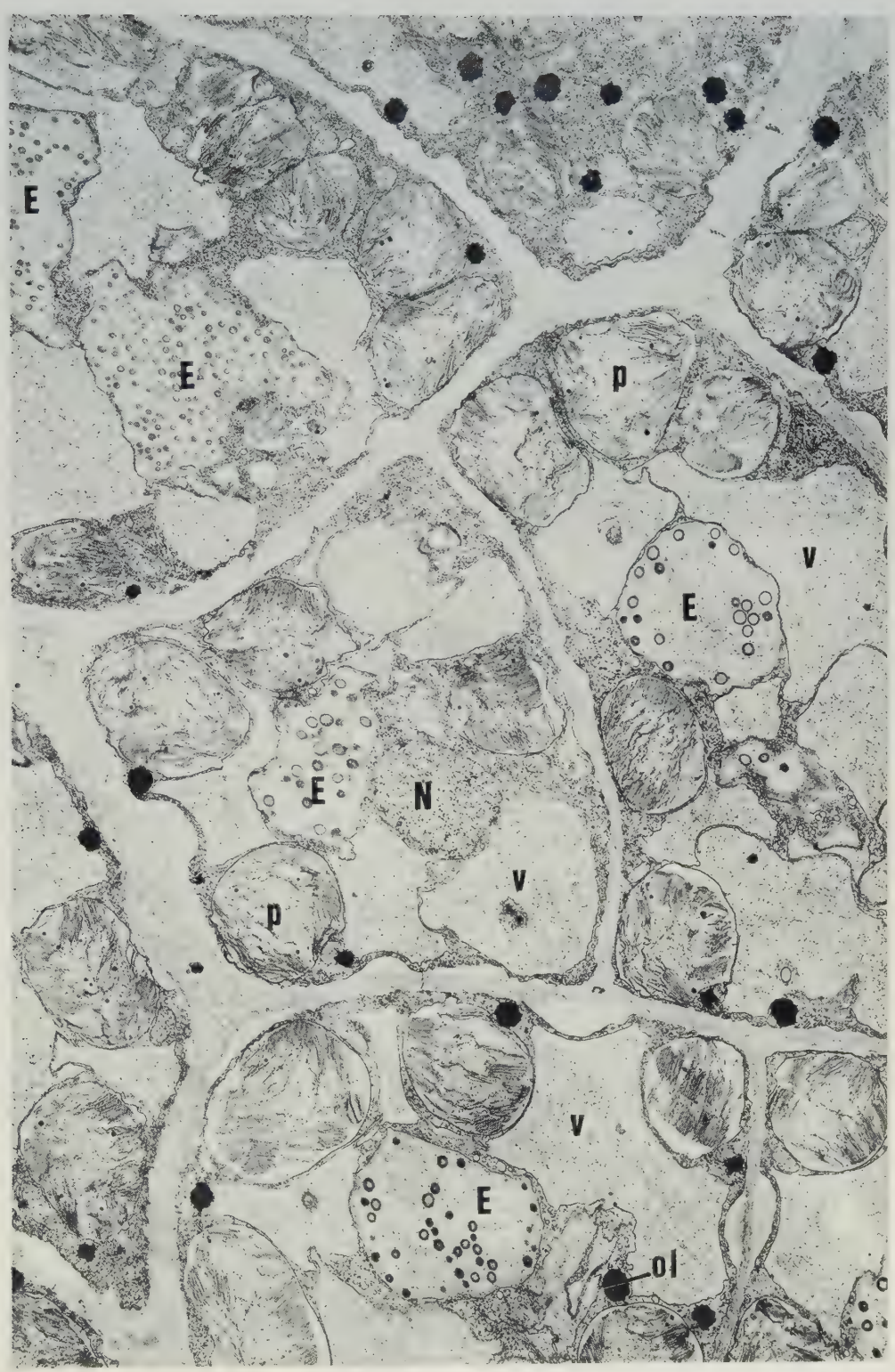

v
ol
N
p
1
p
v
v
v
v
v
N
p
2
lm
N
p
él
p
ol
3
sp
p
N
ol
4b
p
N
4a

Planche 3

Radula complanata - Propagule.

Fixation : selon Palade. G = × 4.100

Les globules des ergastosomes (E) sont légèrement osmiophiles, les oléosomes (ol) le sont très fortement. Vacuoles (v) avec fin précipité et plastes (p) lamellisés. (N), noyau.


E
E
p
v
E
E
N
v
p
v
E
ol

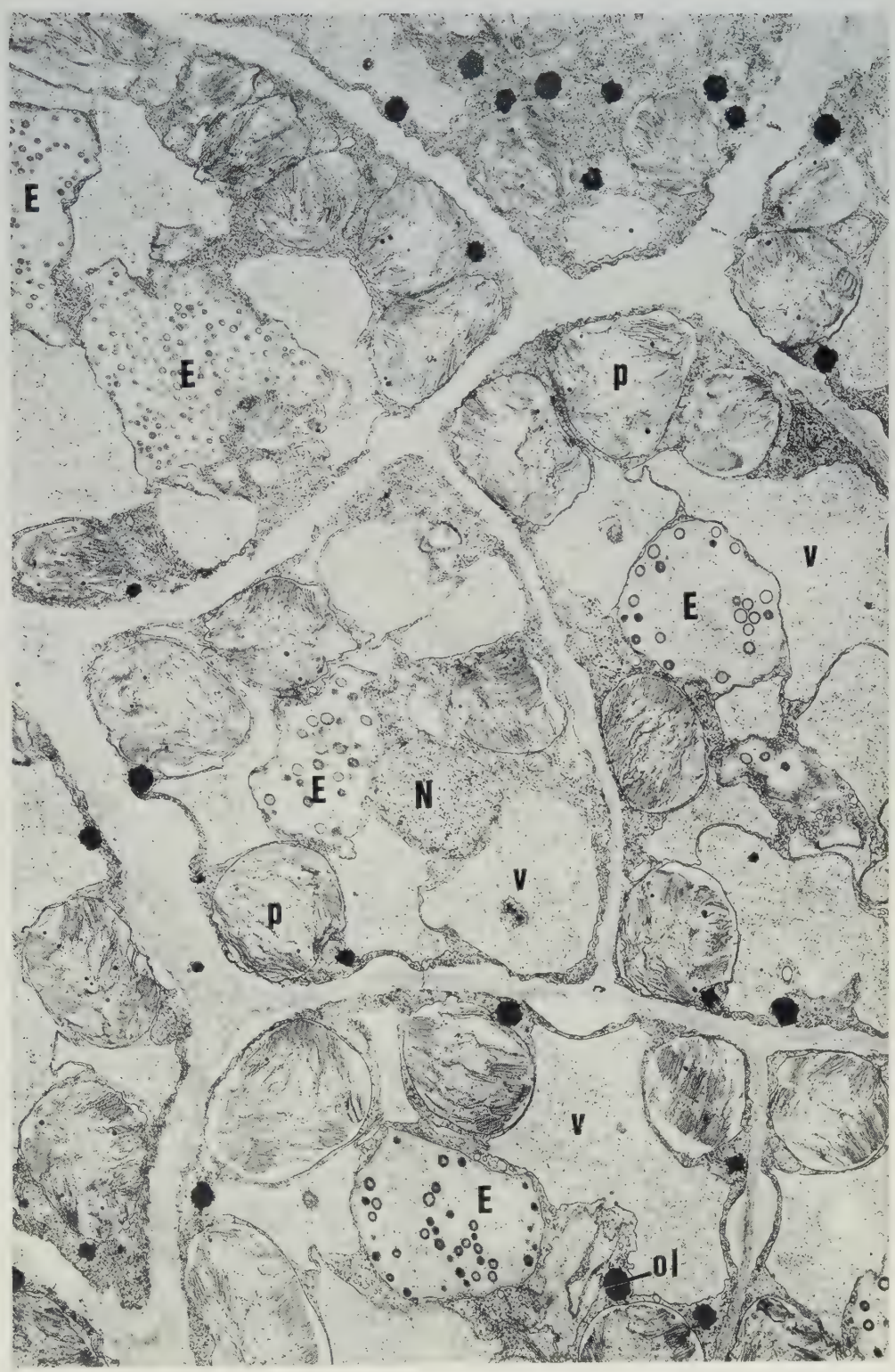

E
E
p
v
E
E
N
v
p
v
E
ol

Planche 4

Radula complanata - Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1 - G = × 31.000

Cellule épidermique de la région apicale d'une tige. Les chloroplastes contiennent des plastoglobules (pg) qui sont libérés dans le cytoplasme, après désorganisation du plaste (flèches).

Fig. 2 - G = × 24.000

Coupe transversale d'une jeune feuille. (E') est une dilatation du reticulum endoplasmique qui représente un très jeune ergastosome à contenu floconneux. (E) est un ergastosome plus évolué, avec quelques globules (flèches) et une paroi plus dense aux électrons que le tonoplaste de la vacuole (v).

Fig. 3 - G = × 30.000

Région apicale d'une tige. L'ergastosome E' est en relation avec le reticulum endoplasmique (re). (E) et (E') sont des ergastosomes avec globules réduits à leur périphérie osmiophile par suite de l'action des solvants employés pour l'inclusion du tissu.

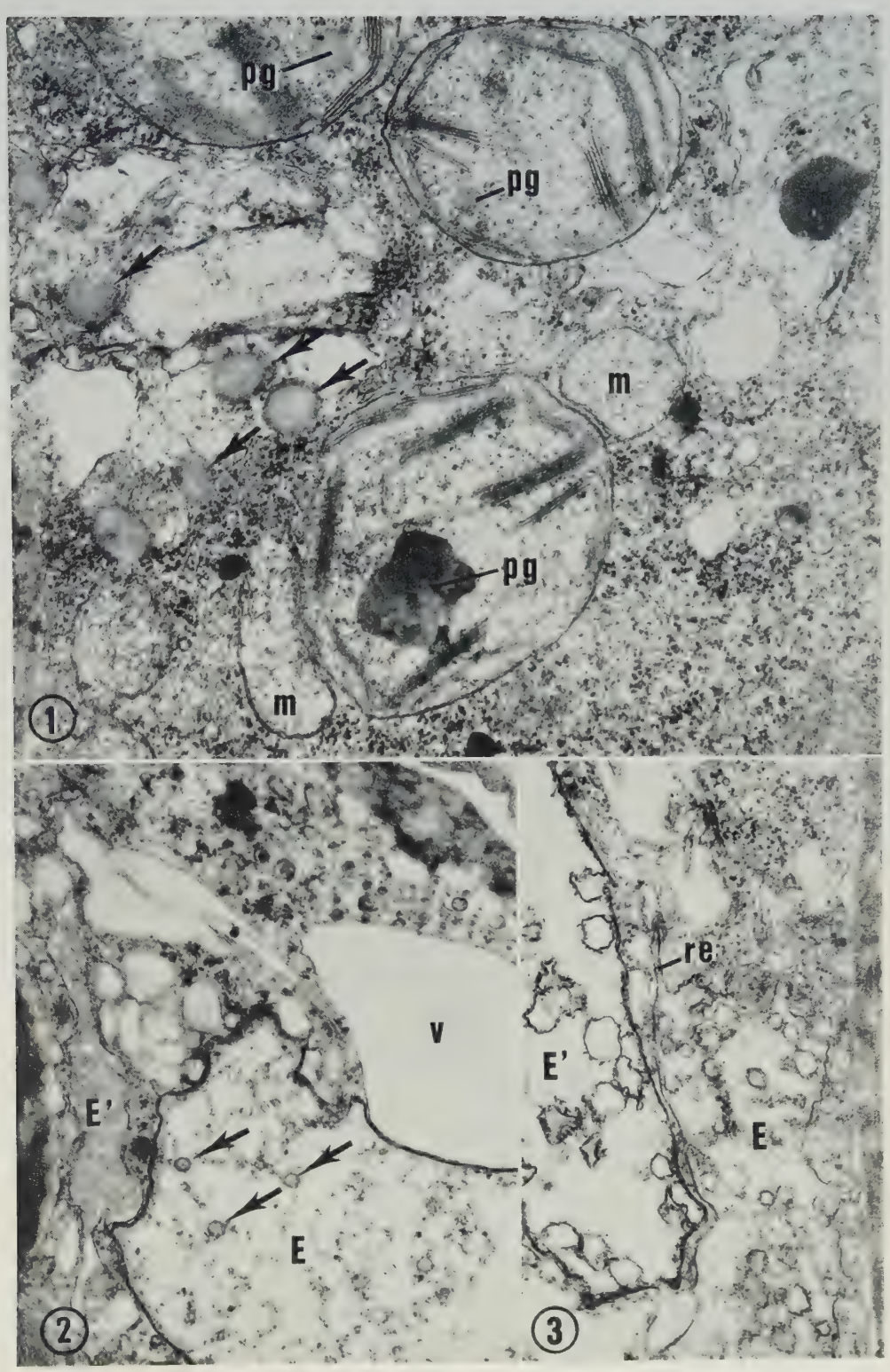

pg
pg
m
pg
m
1
v
E'
E
2
re
E'
E
3

Planche 5

Radula complanata.

Fig. 1 - Cellule de la région apicale d'une tige.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 21.000

La paroi des ergastosomes (E) apparaît nettement plus dense que celle de tous les autres éléments cellulaires. (m), mitochondrie ; (p), plaste.

Fig. 2 - Cellule de la région apicale d'une tige.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 23.000

La paroi de l'ergastosome E' est invaginée au niveau de l'oléosome a (flèche) ; elle se désorganise devant l'oléosome b et se reforme derrière lui. (E), ergastosomes ; (ol), oléosome.

Fig. 3 - Cellule d'une propagule.

Fixation : selon Palade. G = × 18.000

Les ergastosomes (E) sont à des stades d'évolution voisins. La coupe d'un pseudo-cristal de nature protéique apparaît sous forme d'une trame (flèche). (ol), oléosome.

Fig. 4 - Cellule d'une propagule.

Fixation : selon Palade. G = × 17.000

L'ergastosome (E) est à un stade voisin du terme de son évolution ; il est riche en globules à contour osmiophile et il est entouré d'une mince couche de hyaloplasme. Le tonoplaste des vacuoles (v) est moins dense aux électrons que la paroi ergastosomique. (N), noyau ; (ol), oléosome ; (p), plaste.

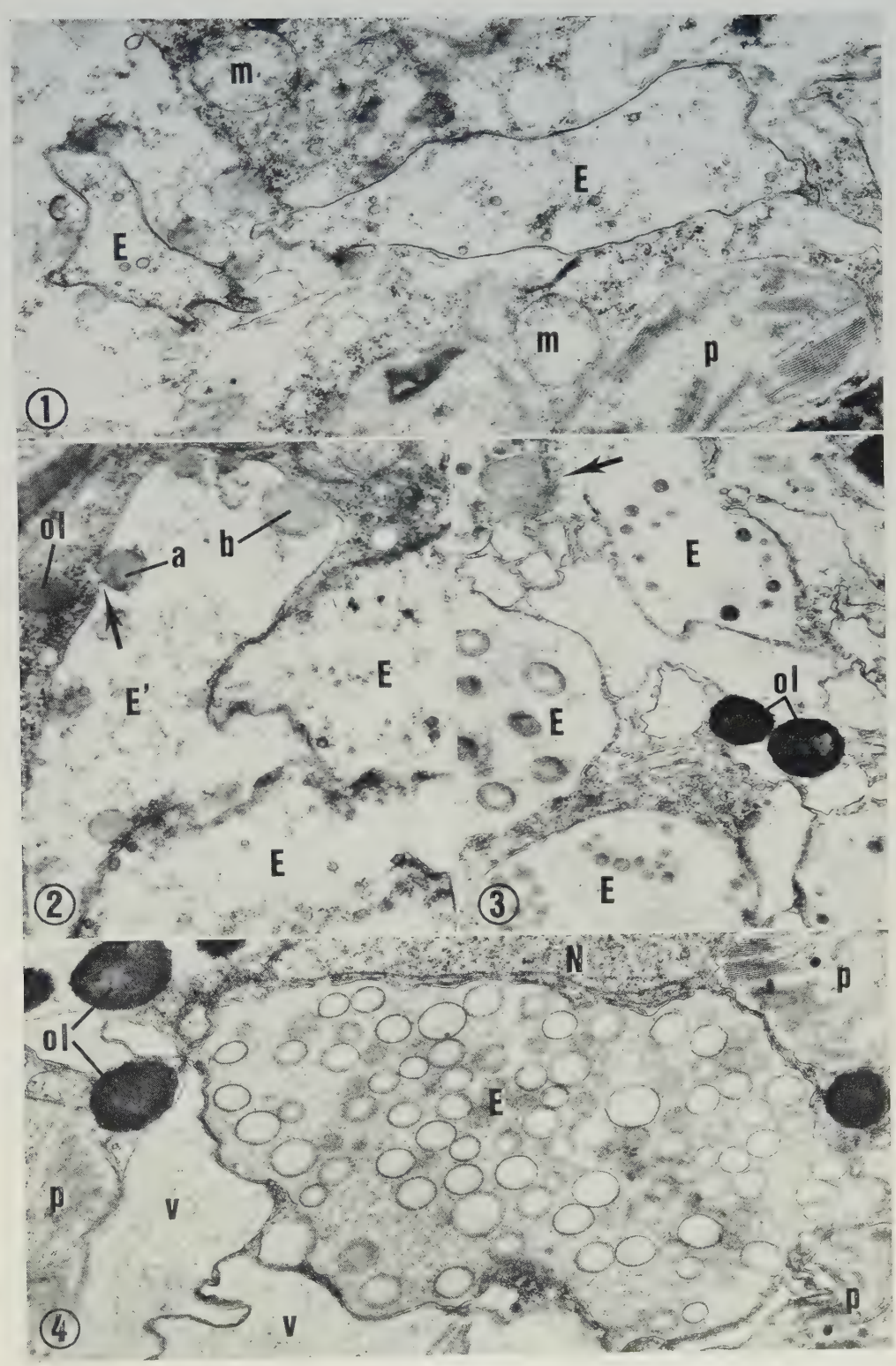

m
E
C
E
m
p
①
ol
a
b
E'
E
E
E
②
E
E
ol
③
N
p
ol
E
p
v
v
p
④

Planche 6

Radula complanata - Propagule.

Fixation : selon Palade. G = × 40.000

Deux ergastosomes (E) se distinguent des vacuoles (v) par la présence d'une paroi fortement osmiophile et de globules peu denses. Les oléosomes (ol) sont très fortement osmiophiles. Une vacuole (v) contient une trame protéique en début de désorganisation (flèche). (p), plaste.

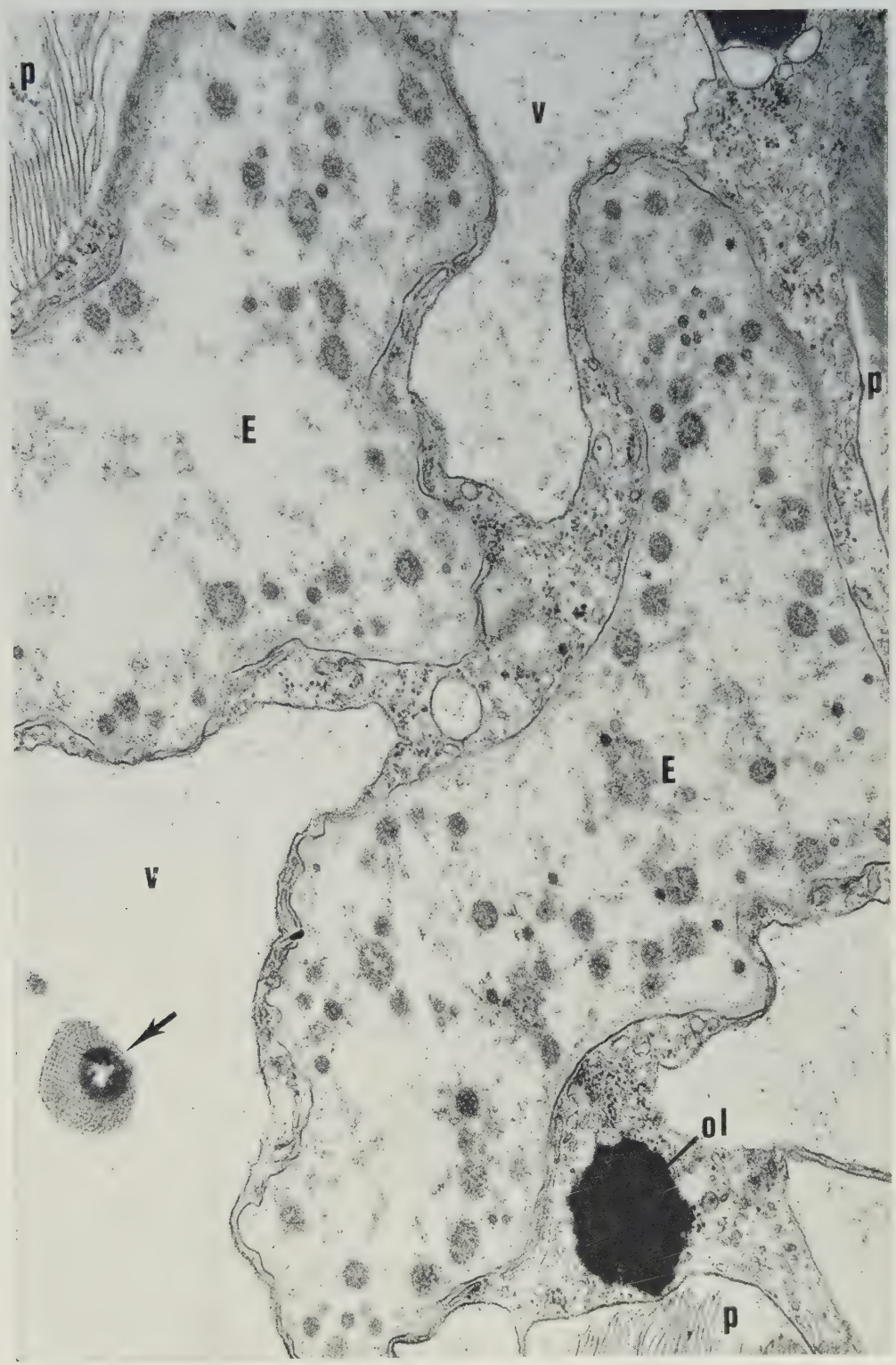

p
v
p
E
E
v
ol
p

Planche 7

Fig. 1 - Radula complanata - Epiderme de l'archégone.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 25.000

Ergastosome (E) en fin d'évolution correspondant à l'oléocorps typique. Les globules sont très nombreux et indépendants, la substance intersticielle est réduite, la paroi est moins dense qu'aux stades antérieurs.

Fig. 2 - Radula complanata - Région apicale.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 200.000

La paroi de l'ergastosome (E) a une structure tripartite ; l'épaississement de la couche interne est dû au dépôt d'un matériel dense, qui se trouve là à un état moins dispersé que dans les autres régions de l'ergastosome.

Fig. 3 - Radula complanata - Propagule.

Fixation : selon Palade. G = × 53.000

La paroi de l'ergastosome (E) a une structure tripartite (flèche) alors que les globules sont limités par un liseré osmiophile. Stade évolué se caractérisant aussi par l'atténuation du dépôt périphérique interne (comparer avec la paroi fig. 2).

Fig. 4 - Pellia epiphylla - Assise sous épidermique de la vaginule.

Fixation : OsO_4 dans tampon phosphate. G = × 33.000

L'ergastosome (E) a une structure identique à ceux de Radula. (ol), oléosome.

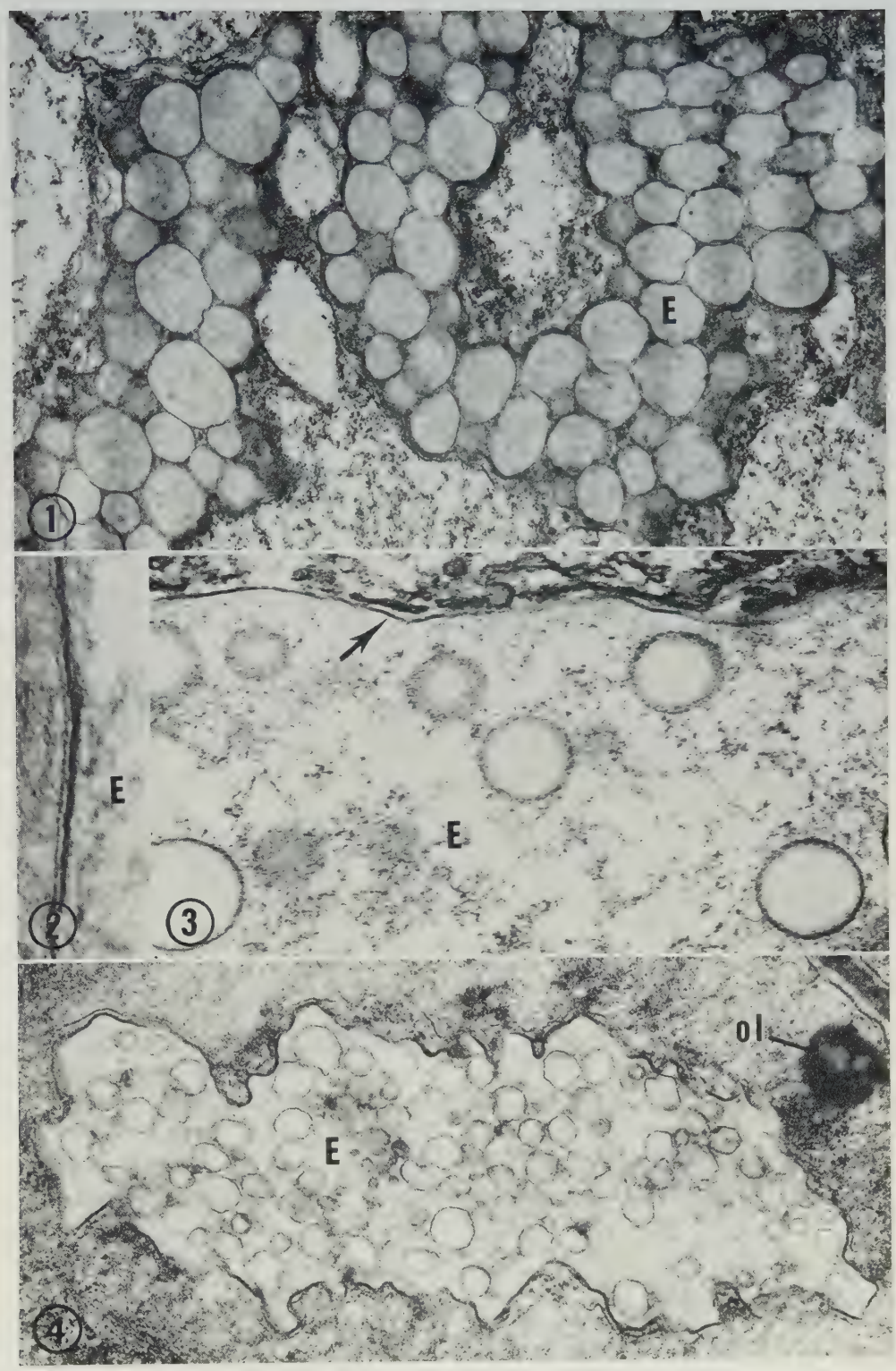

E
1
E
E
2
3
ol
E
4

Planche 8

Archesporium (montage)

Pellia epiphylla.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 15.000

Les chloroplastes (p) et les vacuoles sont de petite taille. Le reticulum endoplasmique est peu développé. (G), dictyosome ; (m), mitochondrie ; (N), noyau.

N
N
m
m
m
m
v
v
G
p
p
v
G

Planche 9

Pellia epiphylla.

Fixation : selon Palade.

Fig. 1 - Coupe d'un élément cellulaire du sac sporogène, en cours de différenciation. G = × 11.000

La lamelle moyenne (lm) persiste dans le gel périphérique. Noter la présence de chromocentres juxtanucléolaires (chr), le grand développement de l'appareil de Golgi (G) et la réduction du vacuome qui n'existe que sous forme de dilatations localisées d'un système réticulaire (re). (n) nucléole ; (ol), oléosome ; (p), plaste ; (pl), trabécules cytoplasmiques en relation avec des plasmodesmes.

Fig. 2 - Amylochloroplaste d'un sporocyte globuleux. G = × 23.000

Le stroma contient des granules de la taille des ribosomes cytoplasmiques (flèches) ainsi que quelques vésicules. (a), amidon.

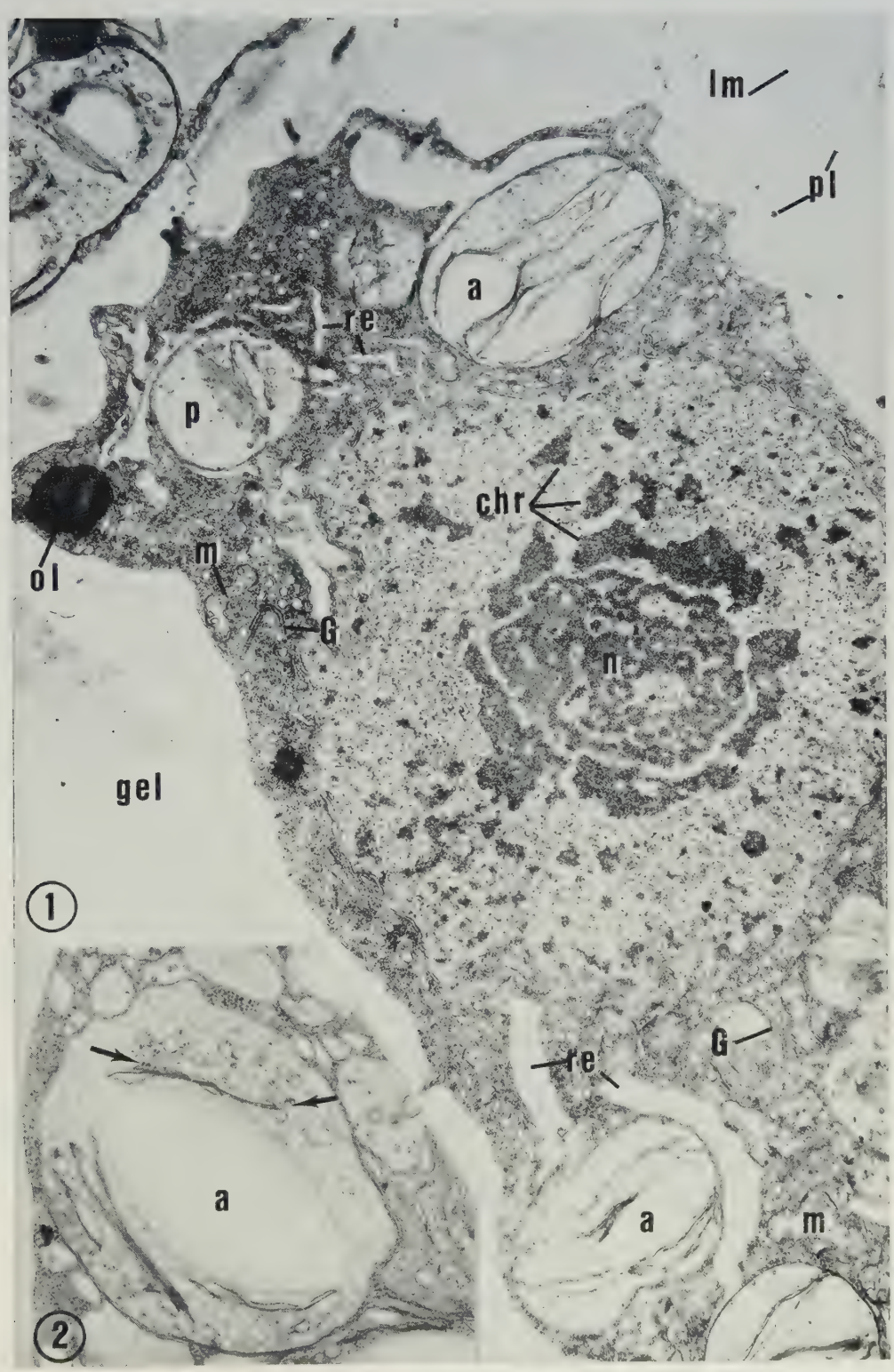

lm
pl
a
re
p
chr
ol
m
G
n
gel
1
a
re
G
a
m
2

Planche 10

Pellia epiphylla.

Fig. 1 - Portion de l'un des 4 mammelons d'un jeune sporocyte.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 23.500

Les plastes (p) sont peu volumineux, peu amylifères et leur système lamellaire est réduit. Les mitochondries (m) sont de grande taille. (N) noyau ; (ol), oléosome ; (vG), vésicule golgienne.

Fig. 2 - Amylochloroplaste d'un sporocyte préméiotique, à un stade de développement nettement postérieur à celui de la cellule figurée en 1.

Fixation : selon Palade. G = × 32.000

Les inclusions amylacées (a) sont volumineuses.

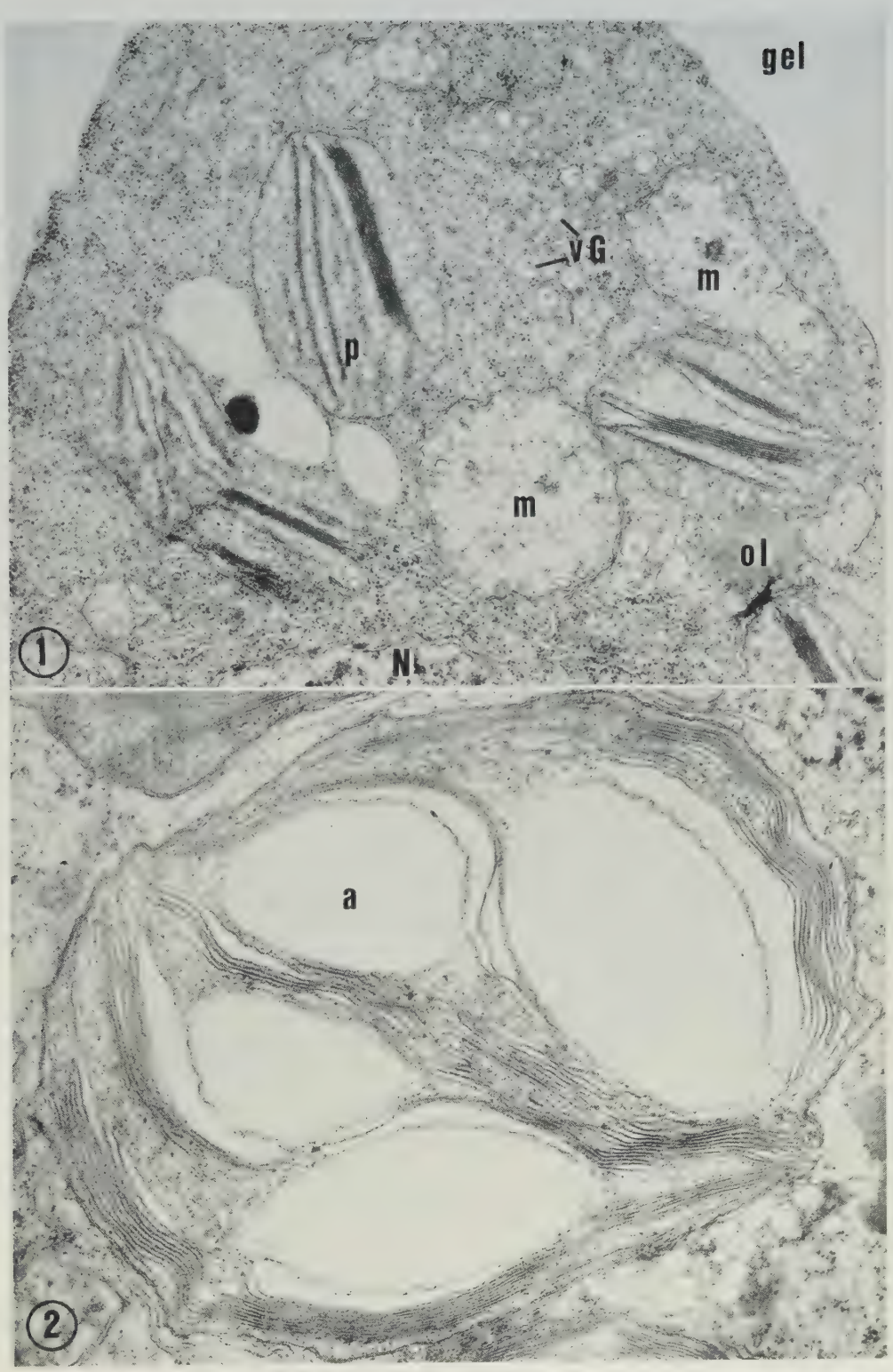

gel
vG
m
p
m
ol
N
1
a
2

Planche 11

Pellia epiphylla - Elatères.

Fig. 1 - Portion de la coupe longitudinale d'une élatère provenant d'une capsule qui contient des sporocytes tétralobés.

Fixation : Palade saccharosé. G = X 8.500

L'élongation de l'élatère n'est pas terminée. Sa paroi propre (P) n'est pas encore constituée (comparer avec fig. 3). Remarquer l'absence d'inclusions amylacées intraplastidiales. (ol), oléosome ; (v), vacuole.

Fig. 2 à 5 - Les élatères se trouvent dans des capsules en compagnie de spores pluricellulaires. Leur élongation est terminée et leurs parois bien constituées.

Fig. 2 - Portion de la coupe longitudinale d'un élatère plus évolué que les 4 autres de la même planche. Phase finale de l'édification des épaississements spiralés.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié, suivi d'une imprégnation à l'acétate d'uranyle selon TERZAKIS. G = X 12.500

Noter l'aspect "grillagé" des mitochondries (m), le rassemblement des ribosomes en petits groupes ou leur accolement aux membranes du reticulum endoplasmique (re). Les travées du reticulum se dilatent localement en vacuoles (v) à contenu plus ou moins osmiophile ; elles enserrent des corps denses (cd). Noter que la densité des vésicules golgiennes est identique à celle des vésicules internes des corps multivésiculaires (cmv) et à celle des vésicules du lomasome (lom) qui se trouve sous l'épaississement spiralé. (G), dictyosome ; (m), mitochondrie.

Fig. 3 - Portion de coupe longitudinale.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié, suivi d'une imprégnation à l'acétate d'uranyle selon TERZAKIS. G = X 14.500

Les plastes (p) contiennent de volumineuses inclusions amylacées (a). Reticulum endoplasmique et vacuome (v) sont bien développés à ce stade. (ol), oléosome.

Fig. 4 - Coupe transversale, perpendiculaire aux gouttières épaissies.

Fixation : Palade saccharosé. G = X 12.500

Les gouttières (ep) contiennent un matériel plus dense que celui qui constitue la paroi (P). (re), reticulum ; (V), vacuole.

Fig. 5 - Coupe oblique.

Fixation : Palade saccharosé. G = X 14.000

Le reticulum endoplasmique (re) a une disposition concentrique. La coupe montre une portion de l'un des épaississements spiralés (ep). (P), paroi de l'élatère.

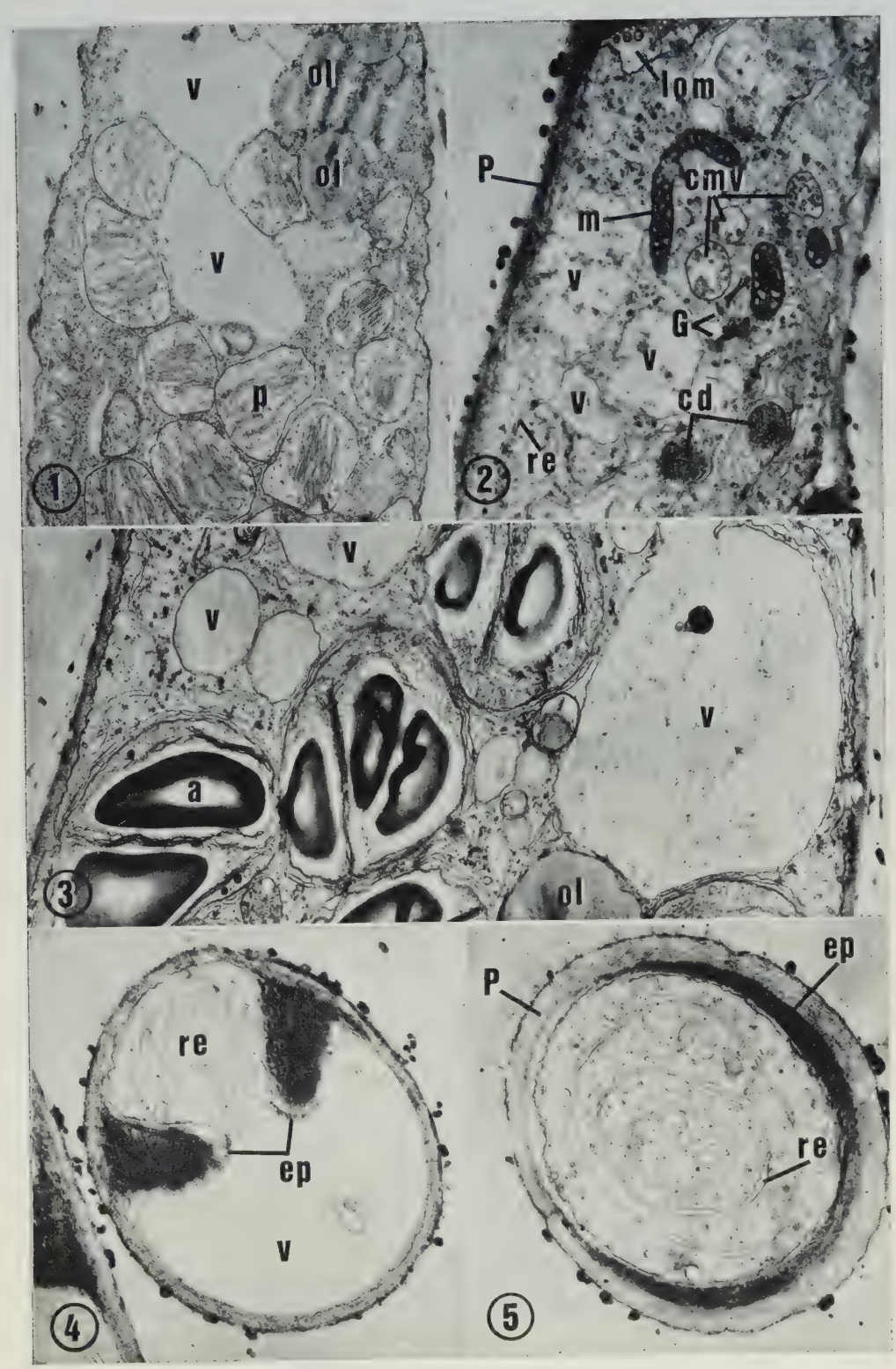

v
ol
ol
v
p
1
lom
P
cmv
m
v
G
v
v
cd
re
2
v
v
v
a
ol
3
re
ep
v
4
P
ep
re
5

Planche 12

Pellia epiphylla - Portion de spore pluricellulaire (stade à deux ou trois cellules).

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 14.000

Noter l'abondance des vacuoles (v) ainsi que la rareté des plastes (p) et surtout des mitochondries dans cette région de la cellule. Des fibrilles (flèches) sont visibles dans le cytoplasme et le noyau (N) a une forme irrégulière. Des dictyosomes (G) particulièrement actifs donnent naissance à des vésicules sombres. Noter la présence d'un corps multivésiculaire (cmv) au voisinage de dictyosomes et celle de lomasomes (lom) sous l'intine (int) de la paroi sporale. (cd), corps dense ; (ex), exine.

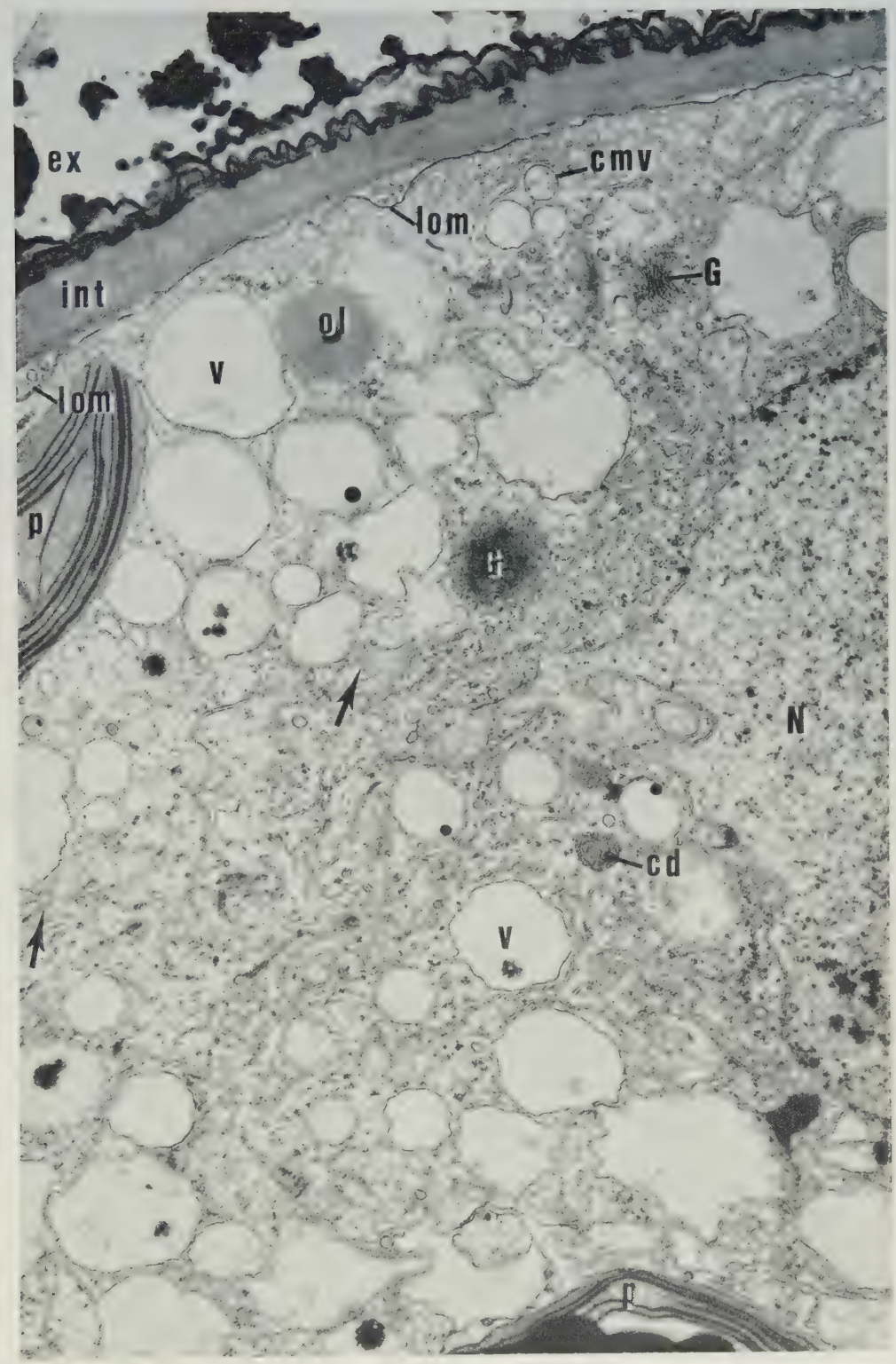

ex
cmv
lom
G
int
oJ
v
lom
p
G
N
cd
v

Planche 13

Pellia epiphylla - Spores pluricellulaires.

Fig. 1 - Spore provenant d'une capsule mûre.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 36.000

La déhiscence de la capsule a été artificiellement retardée par séjour à l'obscurité en milieu humide. Noter l'absence d'amidon et le dédoublement de certains thylacoïdes en granums bien délimités. Comparer avec la Fig. 3, qui constitue l'aspect normal au même stade.

Fig. 2 - Spore.

Fixation : Palade saccharosé. G = × 25.000

Le reticulum endoplasmique (re) est abondant ; les vacuoles (v) ont un contenu osmiophile. ci = cloison interne.

Fig. 3 - Spore provenant d'une capsule mûre.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 23.000

Chloroplaste avec volumineux grain d'amidon. (a) et saccules très étendus.

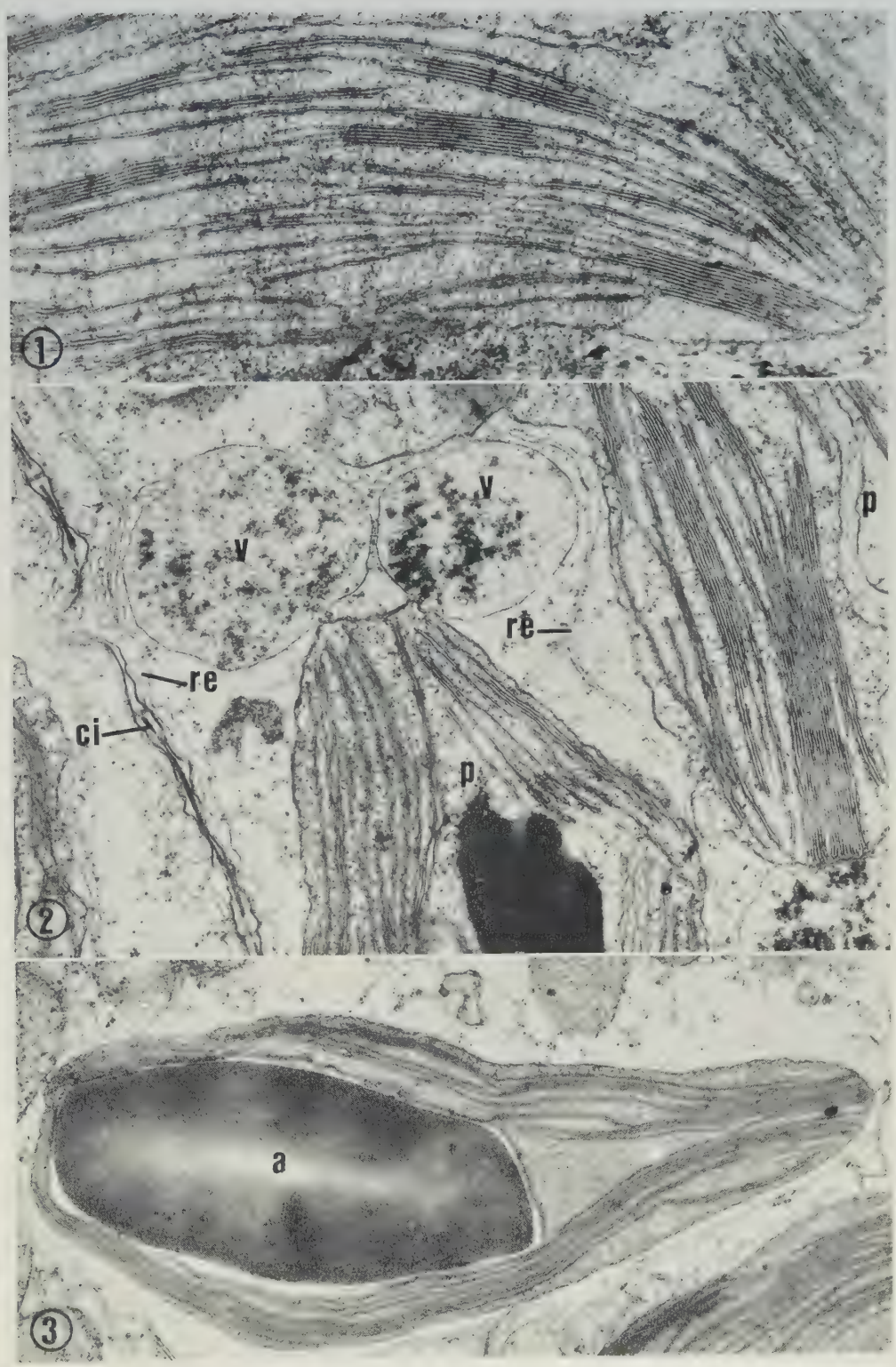

1
v
v
p
re
re
ci
p
2
a
3

Planche 14

Pellia epiphylla - Spore pluricellulaire.

Fixation : Palade saccharosé. G = × 25.000

Nappes pluristratifiées de reticulum organisé. Certains canalicules du reticulum (cre) longent la plaque cellulaire (ci) et participent à l'édification de la cloison. (pl), plasmodesme ; (v), vacuole.

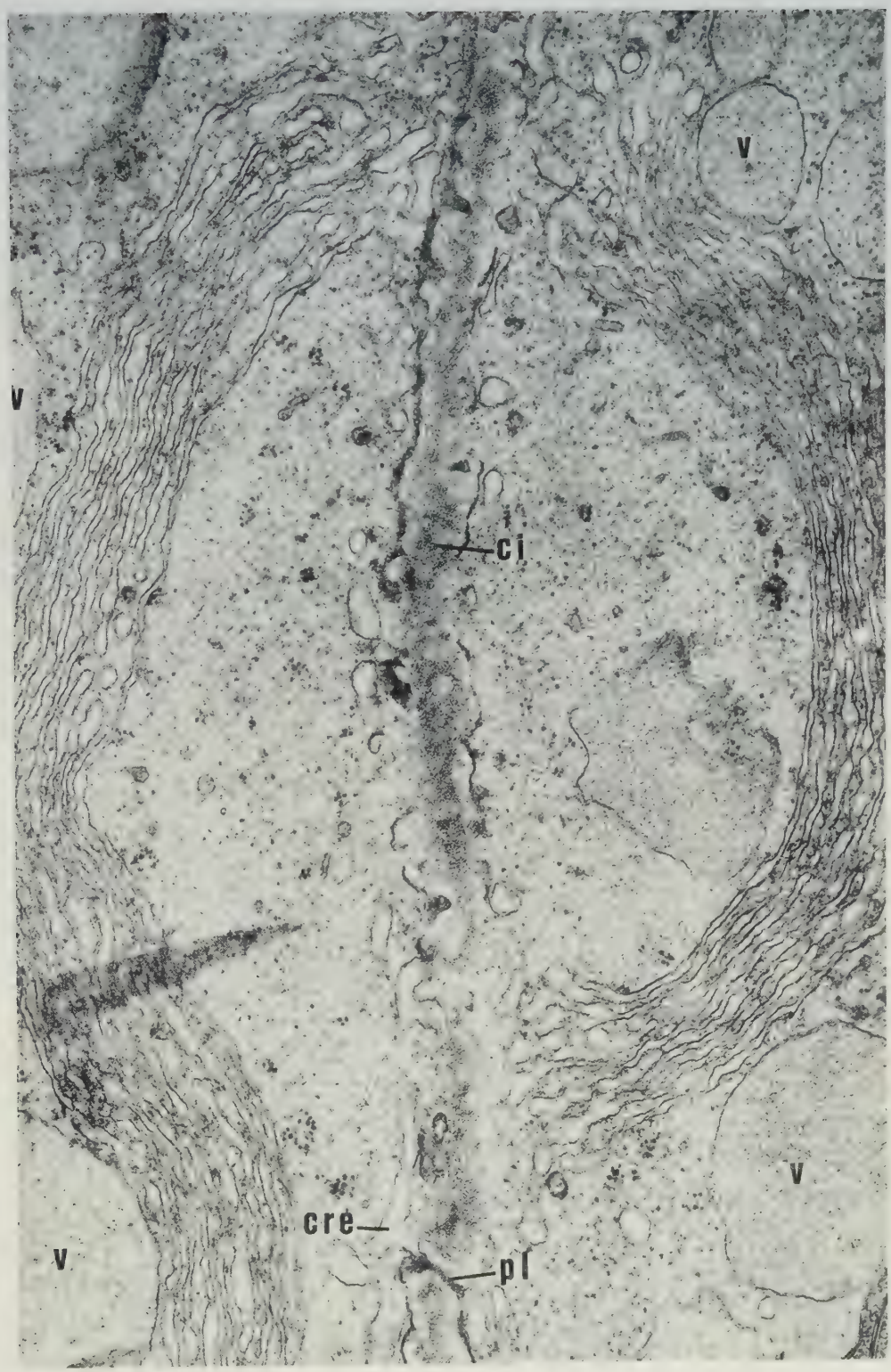

v
v
ci
v
v
cre
pf

Planche 15

Fig. 1 - Pellia epiphylla - Spore pluricellulaire.

Fixation : Palade saccharosé. G = × 23.500

Les extrémités d'une nappe pluristratifiée participent à l'édification d'une cloison interne (ci) de la spore (flèche). (G), dictyosome ; (v), vacuole.

Fig. 2 - Pellia epiphylla - Spore pluricellulaire.

Fixation : Palade saccharosé. G = × 47.000

Nappe pluristratifiée s'étendant entre la paroi sporale (int = intine) et une cloison interne (ci). Des ribosomes sont accolés à certains feuillets (flèches).

Fig. 3 - Pellia epiphylla - Paroi d'une spore pluricellulaire.

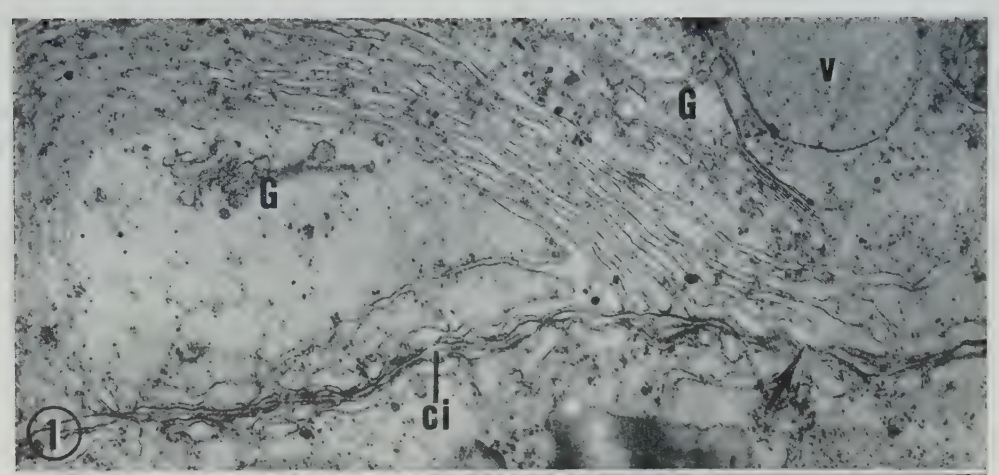
Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 31.000

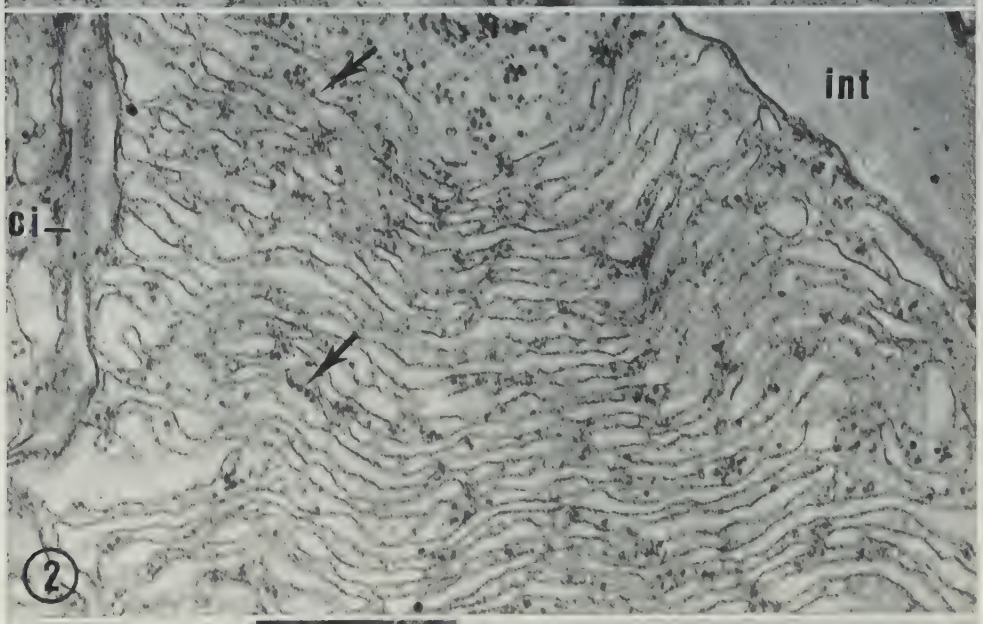
L'intine (int) contient des fibrilles alignées parallèlement à la paroi cellulaire. La lame supérieure de la nexine (nex) se replie et s'érige en piliers qui constituent la sexine (sex).

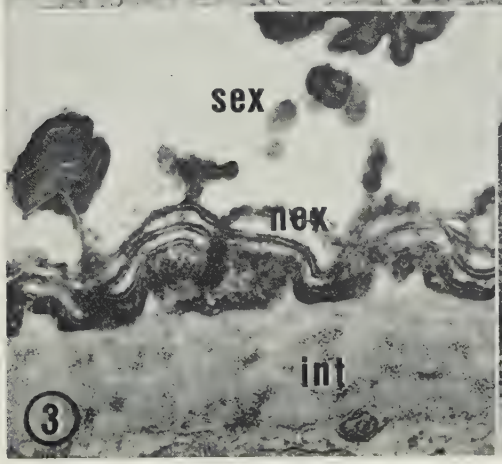
Fig. 4 - Radula complanata - Paroi d'une jeune spore.

Fixation : selon Palade. G = × 25.000

L'intine (int) est fibrillaire ; l'exine (ex) est constituée de piliers noyés dans un feutrage. Les piliers contiennent eux-mêmes des fibrilles (flèches).


G
G
v
ci
1


int
ci
2


sex
nex
int
3

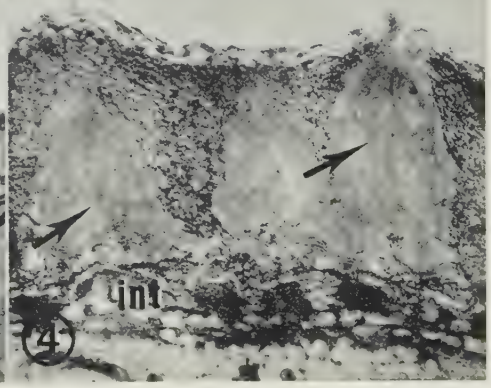

int
4

Planche 16

Radula complanata. G = × 31.000

Fig. 1 - Archesporium.

Fixation : Palade saccharosé.
Plastes (p) à système lamellaire réduit. (N), noyau.

Fig. 2 - Spore.

Fixation : selon Palade.
Plastes (p) avec empilements importants de lamelles.

Dans les deux figures, noter l'absence d'amidon intra-plastidial et le volume des oléosomes (ol).

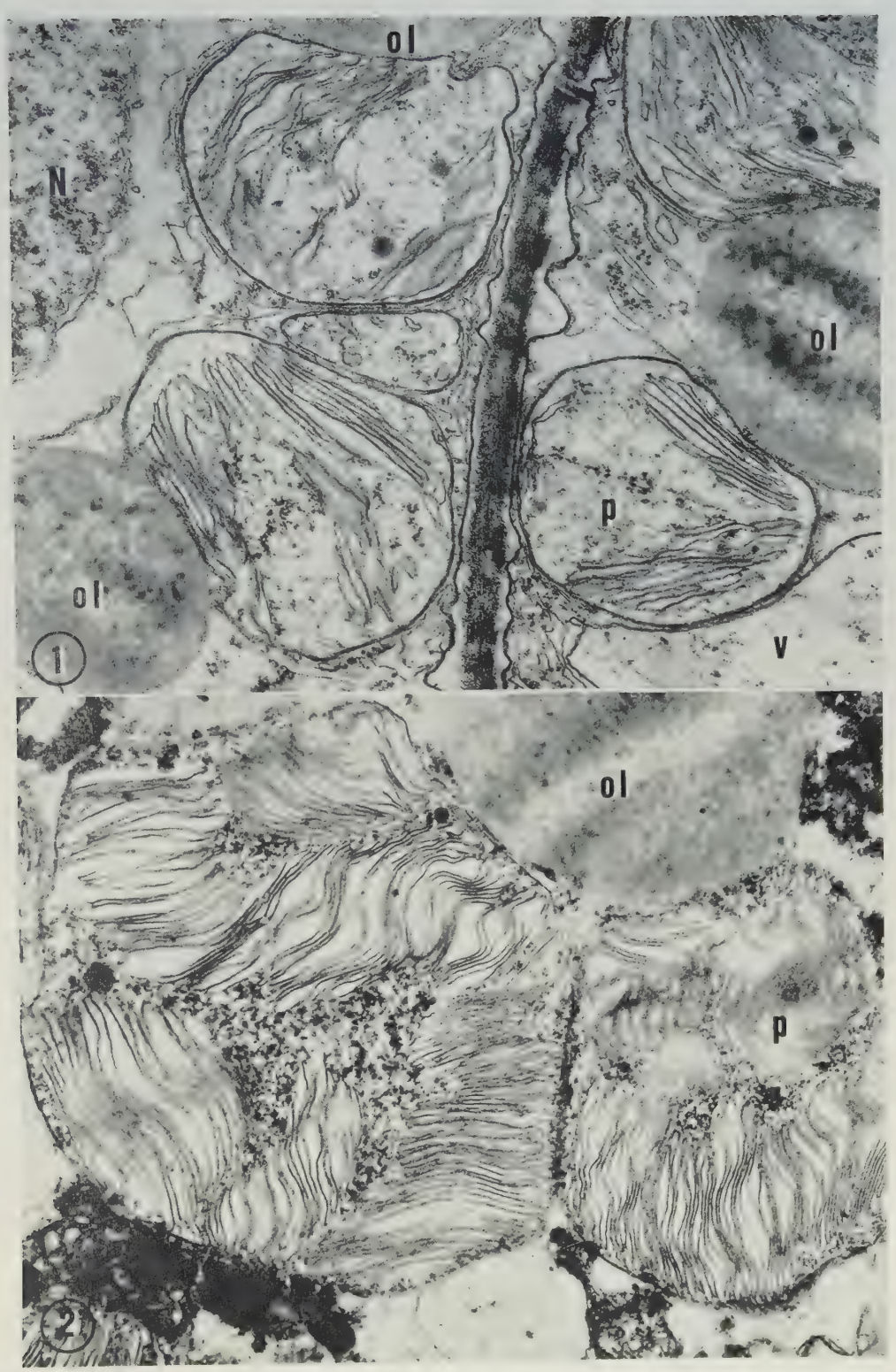

ol
N
ol
p
ol
V
1
ol
p
2

Planche 17

Radula complanata - Elatères de capsules postméiotiques.

Fixation : selon Palade.

Fig. 1 - Coupe transversale au niveau du noyau.
G = × 14.500

La paroi cellulaire est à peu près invisible. Les deux dépressions cytoplasmiques (flèches) sont les coupes des deux gouttières où s'accumulent les substances qui constitueront un épaississement en forme de double spirale. Le reticulum endoplasmique (re) a une disposition concentrique ; ses travées sont localement dilatées en ampoules. (G), dictyosome ; (N), noyau.

Fig. 2 - Coupe longitudinale. G = × 20.500

Les deux dépressions cytoplasmiques (flèches) sont bien visibles. Les oléosomes (ol) sont abondants ; les chloroplastes (p) sont en voie de dégénérescence. (N), noyau.

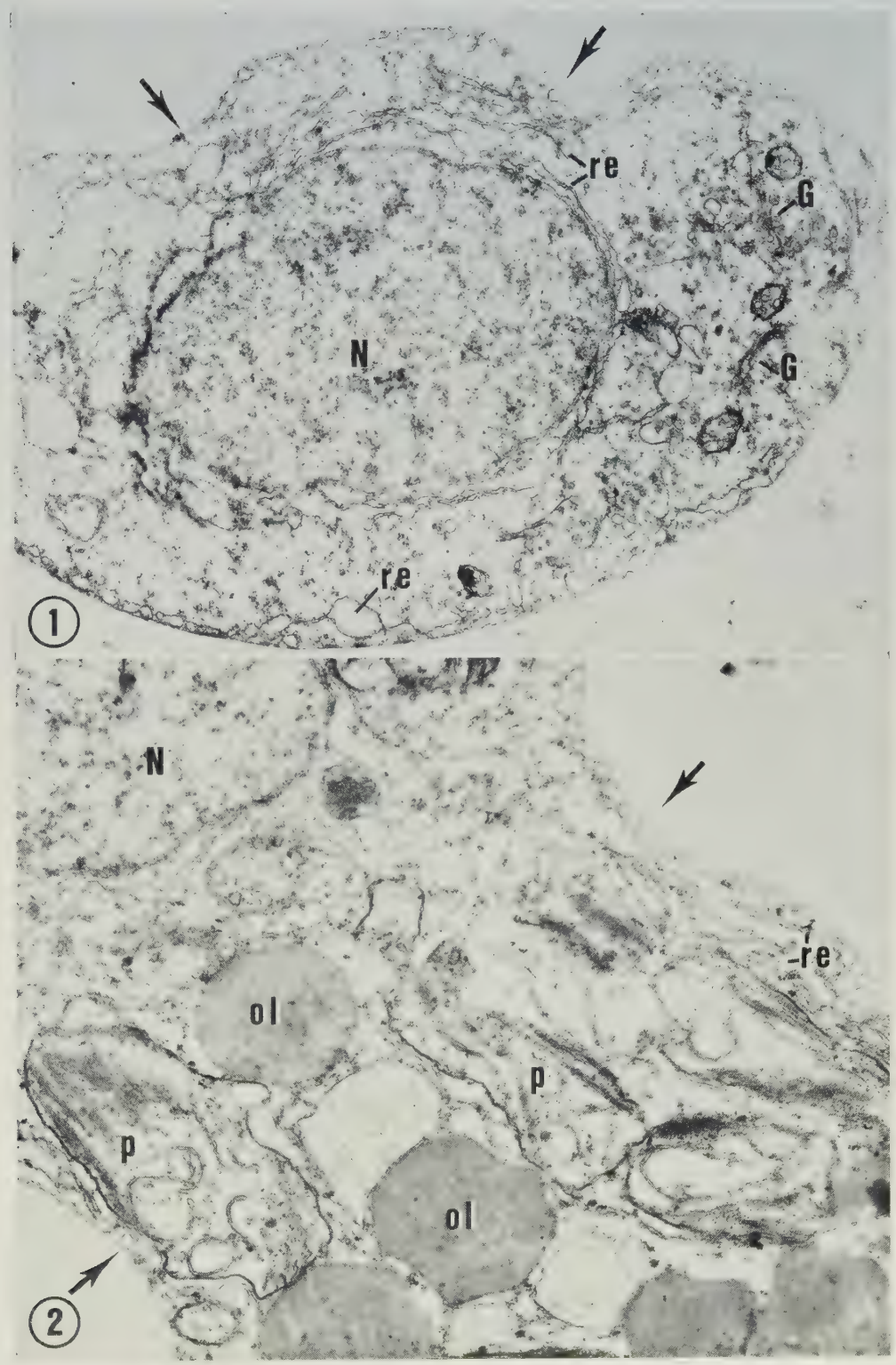

re
G
N
G
re
1
N
re
ol
p
p
ol
2

Planche 18

Pellia epiphylla.

Fig. 1 - Spermatogonie peu évoluée.

Fixation : Palade saccharosé. G = × 18.000

Chaque spermatogonie contient deux plastes (p) avec amidon (a). La lamelle moyenne (lm) est bien visible entre les parois cellulaires primaires.

Fig. 2 - Spermatogonie durant le dernier interphase (stade évolutif identique à celui de la cellule pl. 20).

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 23.000

Remarquer l'orientation de microtubules et de travées ergastoplasmiques (ER) ainsi que la vésiculisation partielle de certaines mitochondries (m) à matrice densifiée dans les régions non vésiculisées. (ol), oléosome ; (p), plaste ; (vm), vésicule mitochondriale.

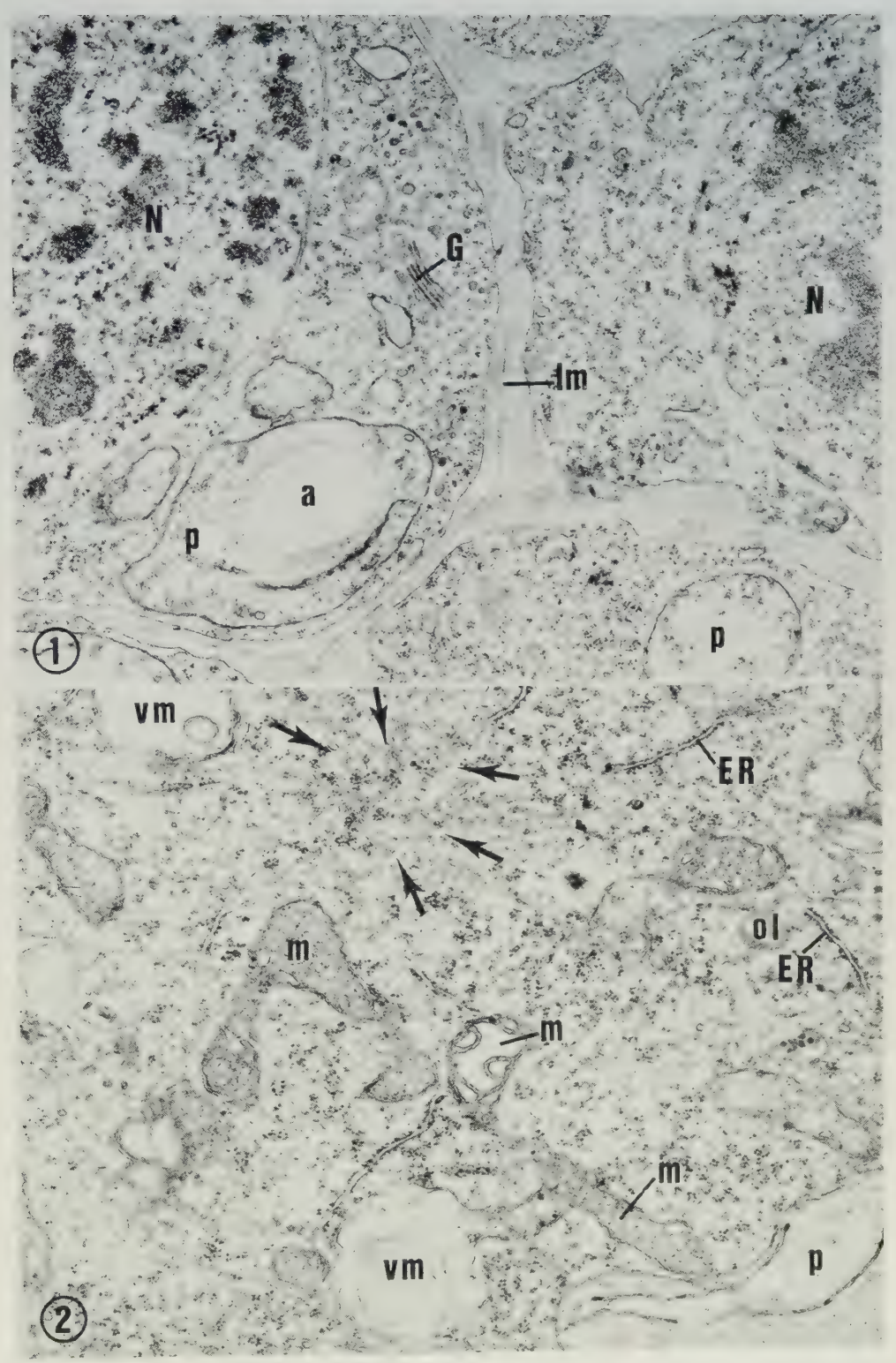

N
G
N
lm
a
p
p
1
vm
ER
ol
ER
m
m
m
vm
p
2

Planche 19

Pellia epiphylla - Spermatogonies à noyau interphasique après un cloisonnement.

Fixation : selon Palade. G = × 12.000

Fig. 1 - Coupe légèrement oblique par rapport au plan de la plaque cellulaire. L'un des deux plastes (p) est coupé longitudinalement ; remarquer son volume, la présence d'amidon (a) et le resserrement médian. (G), dictyosome ; (N), noyau ; (v), vacuole.

Fig. 2 - Coupe presque perpendiculaire au plan de la plaque cellulaire (P).

Vésicules golgiennes et vacuoles (v) sont abondantes. (m), mitochondrie ; (N), noyau.

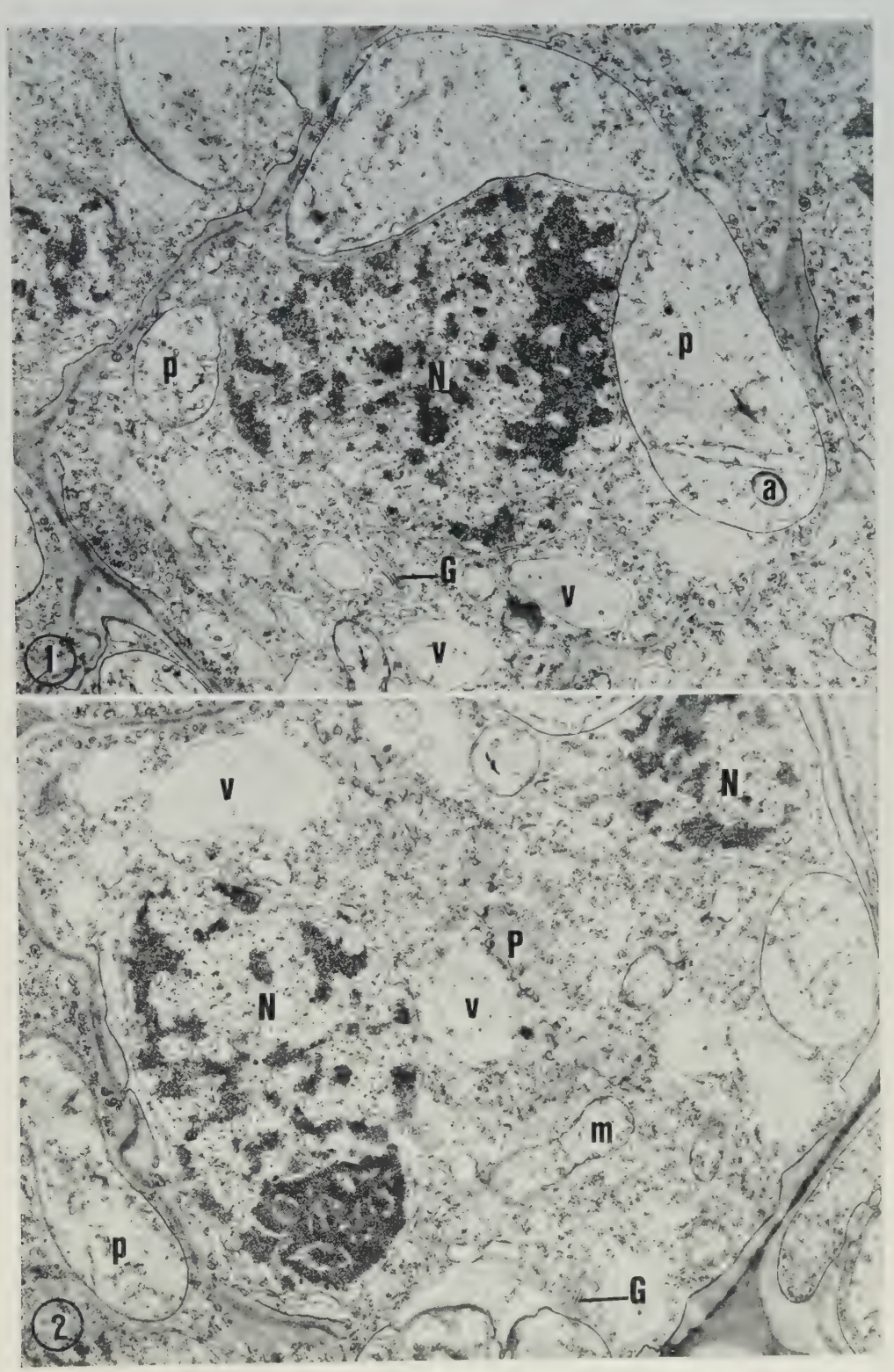

p
N
p
a
G
v
v
1
v
N
P
N
v
m
p
G
2

Planche 20

Pellia epiphylla - Spermatogonies durant la dernière interphase.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = x 23.000

Dans une cellule, des groupes de microtubules (mt) se trouvent au voisinage de la paroi nucléaire ; dans l'autre, ils sont rassemblés en gerbe. Le reticulum endoplasmique (re) est fréquemment granulaire (ER) ; certaines régions s'élargissent en dilatations vacuolaires (pv). (N), noyau ; (ol), oléosome ; (p), plaste ; (vG), vésicule golgienne.

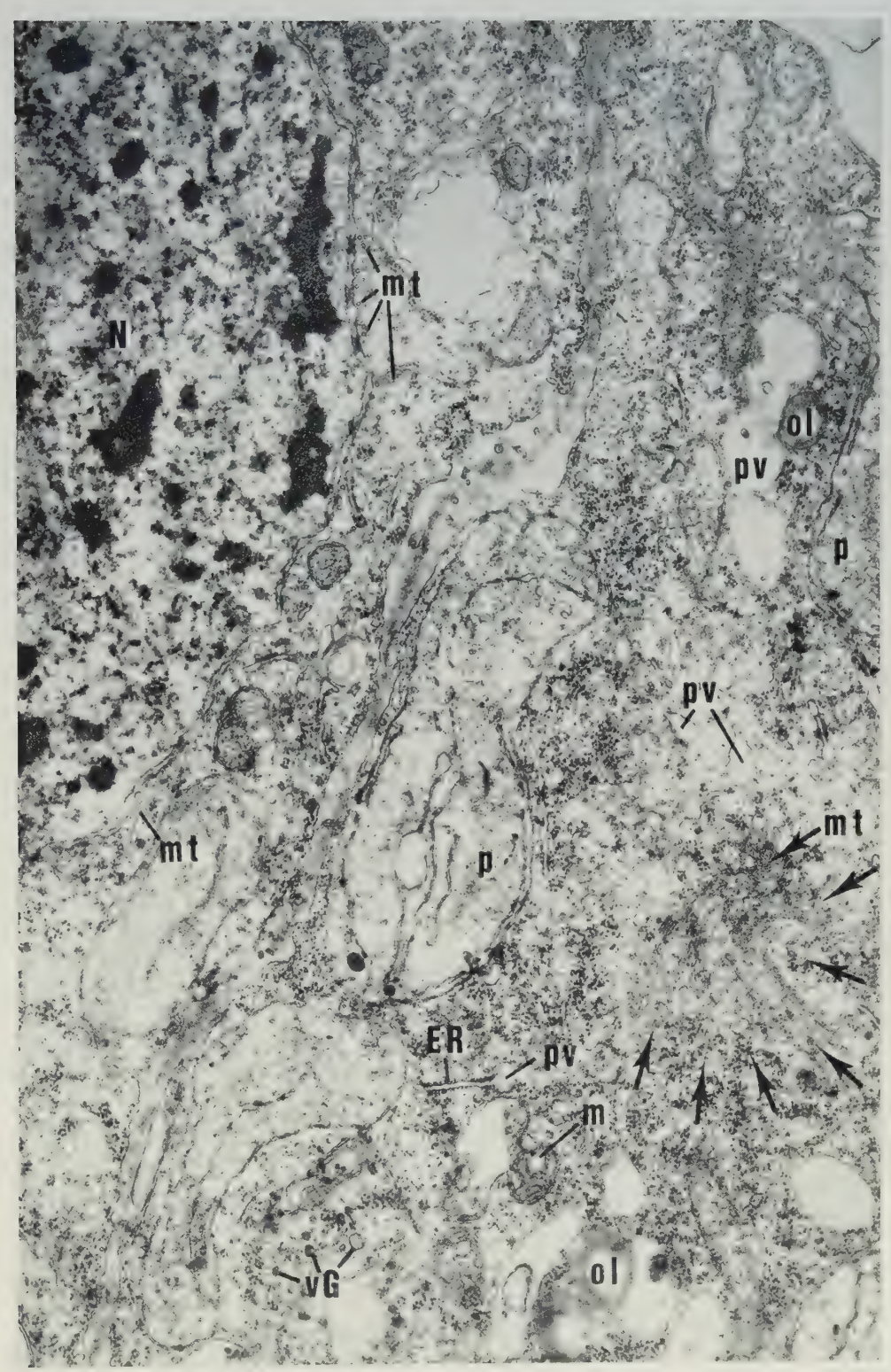

mt
N
ol
pv
p
pv
mt
mt
p
ER
pv
m
vG
ol

Planche 21

Pellia epiphylla.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 31.000

Fig. 1 - L'un des plastes d'une spermatogonie durant la dernière interphase (même stade que pl. 20 et fig. 2, pl. 18).

Noter que les lamelles intraplastidiales sont indépendantes et orientées suivant le plus grand du plaste (p).

Fig. 2 - G = × 19.000

Portion de l'un des deux plastes d'un spermatocyte polyédrique.

Remarquer sa forme allongée et flexueuse, l'abondance des vésicules ainsi que l'aspect granuleux du stroma. (a), amidon ; (p), plaste.

Fig. 3 - G = × 19.000

Portion de l'un des deux plastes d'un spermatocyte polyédrique. Coupe d'une région du plaste aplatie en calotte ; (a), amidon ; (p), plaste.

Fig. 4 - G = × 17.000

Spermatocyte polyédrique. Vacuole autophagique contenant des fragments cytoplasmiques pourvus d'une membrane et de ribosomes.

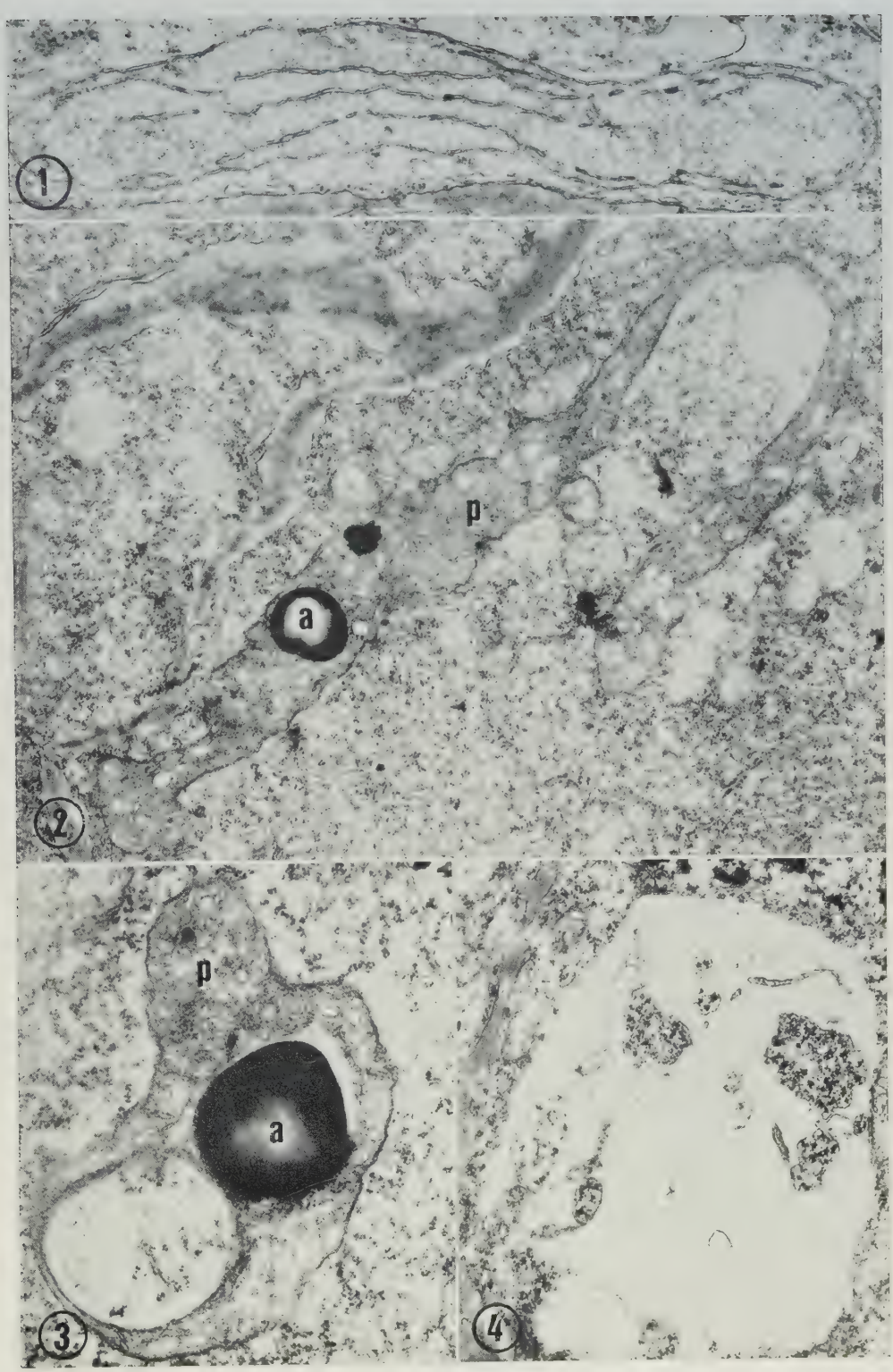

1
p
a
2
p
a
3
4

Planche 22

Pellia epiphylla - Spermatocytes en cours d'individualisation.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1 - G = × 30.000

Remarquer les formations concentriques édifiées par le reticulum endoplasmique (re) et l'abondance des mitochondries vésiculisées (vm). (N), noyau ; (ol), oléosome.

Fig. 2 - G = × 24.000

Remarquer le volume de l'inclusion amylacée intraplastidiale (a) et l'abondance des vésicules golgiennes. (G), dictyosome ; (N), noyau ; (p), plaste.

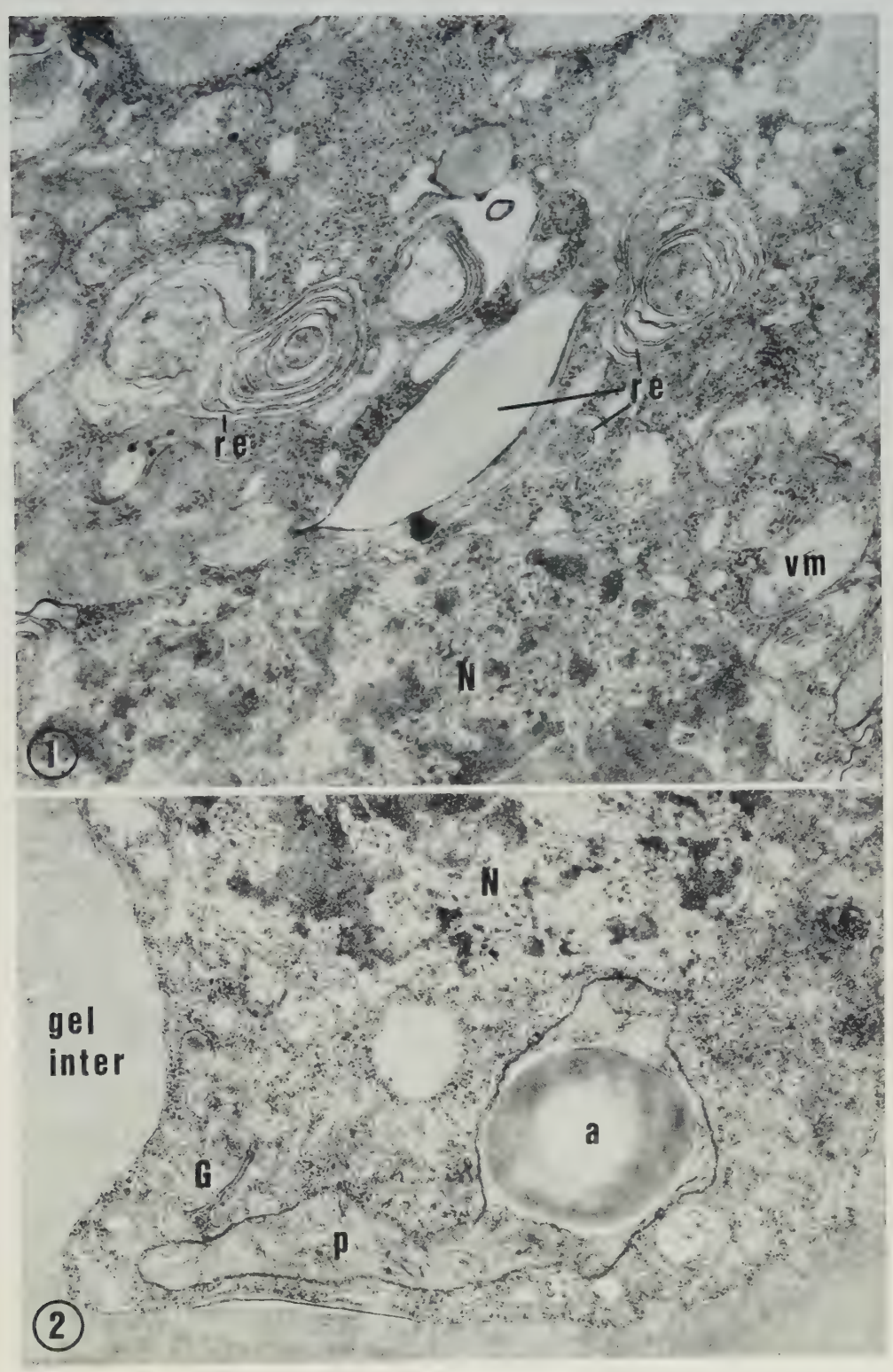

re
re
vm
N
1
N
gel
inter
a
G
p
2

Planche 23

Pellia epiphylla - Spermatocyte en fin d'ovalisation.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 19.000

Les cellules sont dépourvues de paroi propre ; les traces de la lamelle moyenne (lm) persistent dans le gel intercellulaire (gel inter). Les deux plastes (p) avec amidon (a) sont symétriques par rapport au noyau (N). (n), nucléole ; (re), reticulum endoplasmique ; (vG), vésicule golgienne ; (vm), mitochondrie vésiculisée.

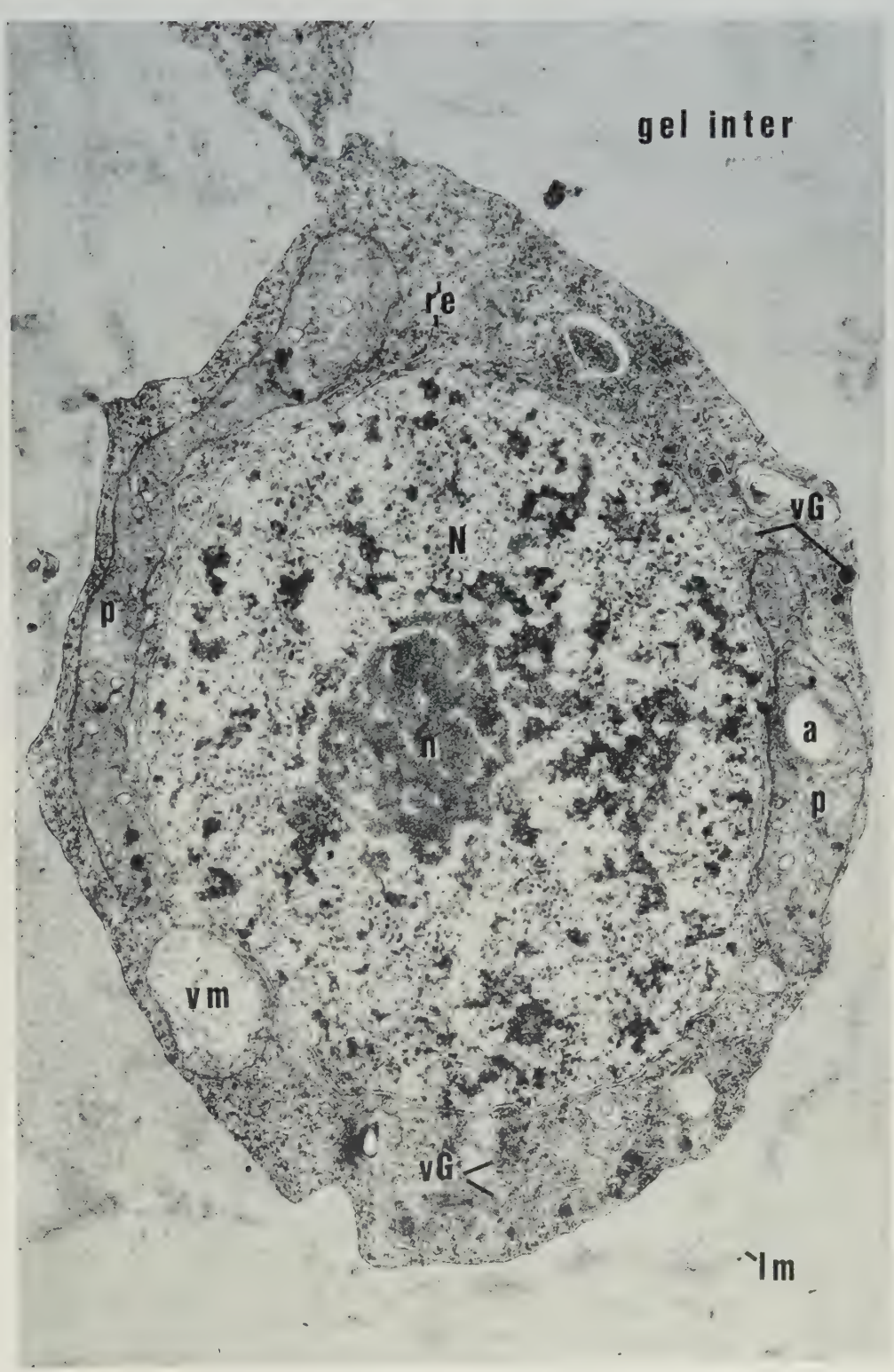

gel inter
re
N
vG
p
n
a
p
vm
vG
lm

Planche 24

Pellia epiphylla - Spermatocytes en télophase (tassement polaire). Coupes perpendiculaires au plan de la plaque cellulaire (Pc), qui est à l'origine de la cloison séparant les deux spermatides issues du même spermatocyte.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1 - G = × 18.000

Chacune des deux masses de chromatine est entourée d'un feuillet dérivé du reticulum endoplasmique (voir pl. 25) et surmontée par un plaste (p). (eN), extrusion d'origine nucléaire ; (G), dictyosome ; (ol), oléosome ; (vm), vésicule mitochondriale.

Fig. 2 - G = × 20.000

Les microtubules du fuseau traversent la plaque cellulaire (flèche).

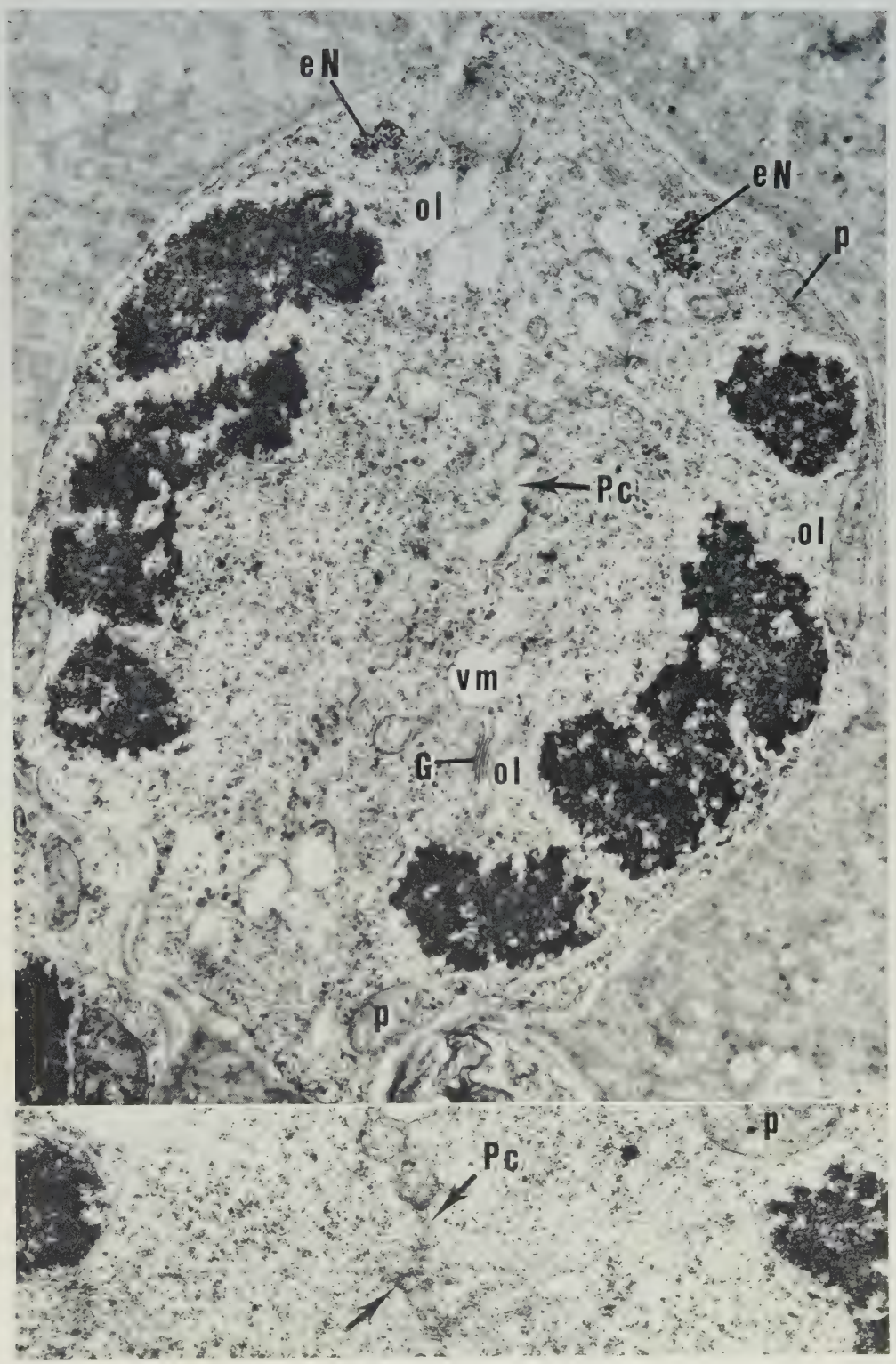

eN
eN
ol
p
Pc
ol
vm
G
ol
p
p
Pc

Planche 25

Pellia epiphylla - Spermatocytes en télophase (même cellule que pl. 24).

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 31.000

Des portions agranulaires du reticulum endoplasmique (re) entourent des masses de chromatine. Le plaste (p) se trouve entre les plages chromatiniennes et la membrane ectoplasmique. (eN), extrusion d'origine nucléaire. La plaque cellulaire se présente comme un alignement d'éléments d'origines diverses traversé par quelques tubules courts (flèche). Certains éléments, dans lesquels une structure mitochondriale est encore reconnaissable (m) semblent participer à sa formation. (G), dictyosome ; (ol), oléosome ; (vm), mitochondrie vésiculisée.

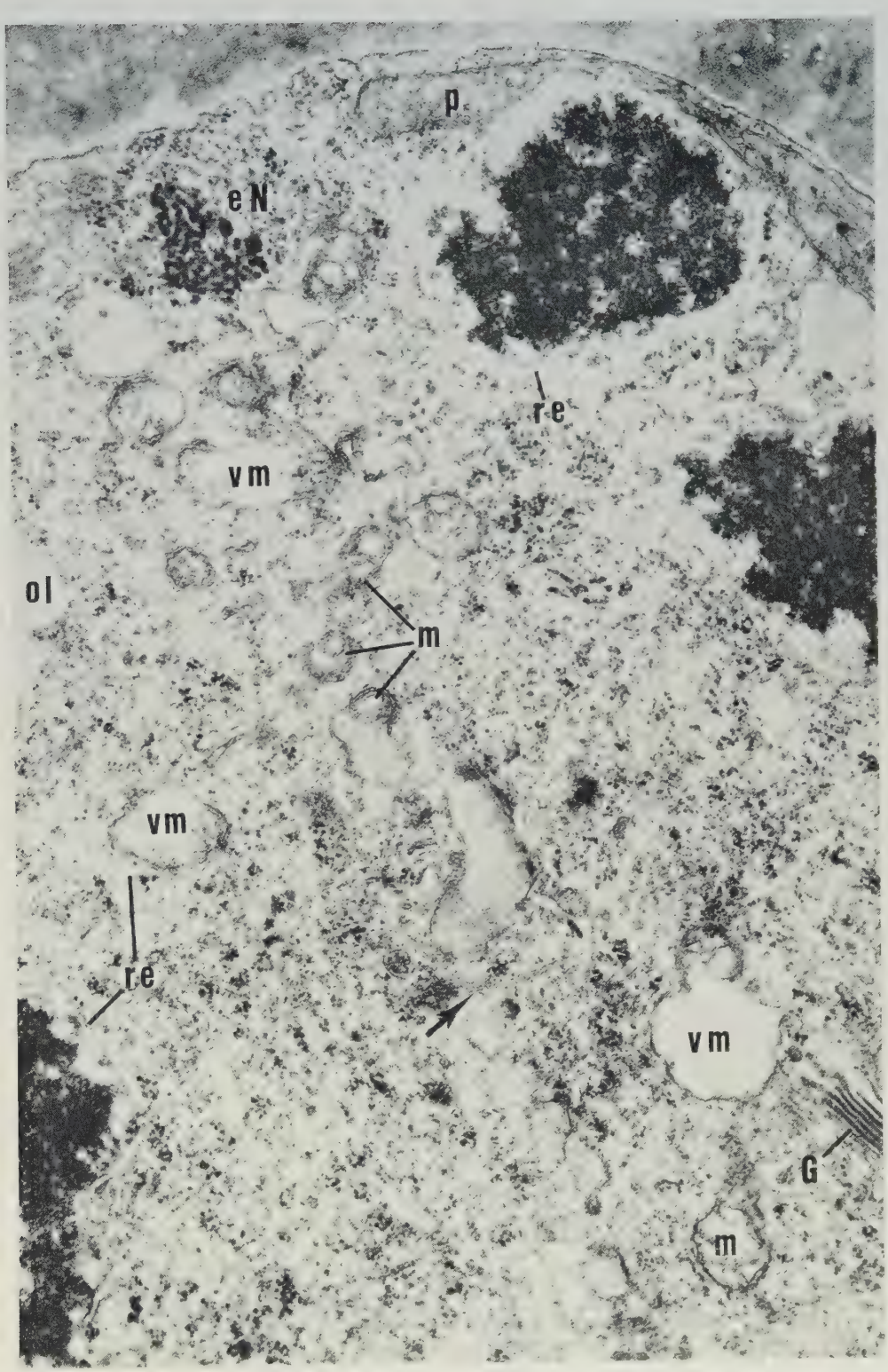

p
eN
re
vm
ol
m
vm
re
vm
G
m

Planche 26

Pellia epiphylla - Spermatocyte en fin de télophase.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 21.000

Les deux spermatides ne sont pas encore individualisées puisque la plaque cellulaire est discontinue. (G), dictyosome ; (m), mitochondrie ; (N), noyau ; (p), plaste ; (vm), mitochondrie vésiculisée.

p
G
m
vm
N
N
p
vm
vm
p

Planche 27

Pellia epiphylla - Spermatides venant de s'individualiser. Fixation : MnO_4K tamponné.

Fig. 1 - G = × 37.500

Phase de multiplication des dictyosomes. Remarquer la grande taille de certains saccules ainsi que celle de leurs productions vésiculaires. (m), mitochondrie ; (re), réticulum endoplasmique.

Fig. 2 - G = × 18.000

Noter le développement considérable de l'appareil de Golgi. (N), noyau ; (p), plaste.

Fig. 3 - G = × 18.000

Extrémité postérieure d'une spermatide. Remarquer la forme allongée et flexueuse du plaste (p). (N), noyau.

Fig. 4 - G = × 50.000

Un des stades de l'organisation de la travée périphérique de reticulum (re). Noter l'existence de connexions avec la paroi nucléaire (flèches). (N), noyau.

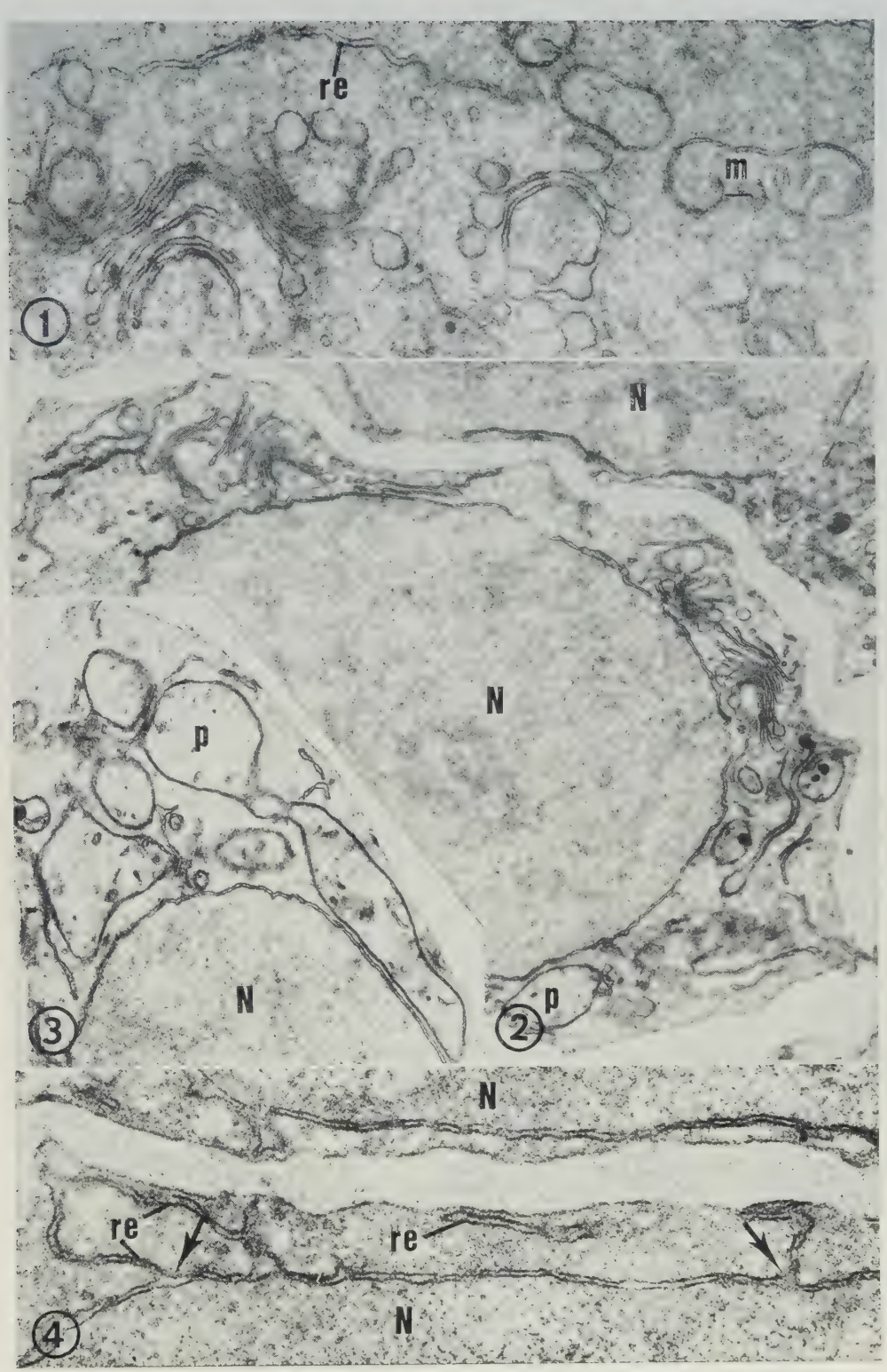

re
m
1
N
N
p
3
N
2
p
N
re
re
4
N

Planche 28

Pellia epiphylla - Spermatides.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1 - G = × 17.000

Coupe longitudinale des deux spermatides issues du même spermatocyte. Le noyau (N) est en position antérieure, le corps basal en position postérieure. Le plaste (p) contient des inclusions amylacées (a). Noter la continuité de la travée périphérique de reticulum (re) ainsi que l'existence d'une travée périplastidiale (spermatide de droite). Les coupes des flagelles (fA, flagelle antérieur ; fB, flagelle postérieur) et de la languette transitoire sont visibles aux deux pôles de la cellule ; un tubule de la languette sur diverticule (Ld) est visible dans certaines régions de la face externe de la spermatide de gauche, entre le plasmalemme et un diverticule (d) ; la coupe de la languette épinucléaire (LN) apparaît entre la membrane plasmique et le noyau. Remarquer l'abondance des formations golgiennes (G) et la présence de vésicules mitochondriales (vm) issues du corps mitochondrial basal (cmb). Noter la différence de densité entre le gel intercellulaire (gel inter), et le gel péricellulaire (gel peri). (Pm) est la paroi commune à deux spermatides, (c) désigne leur coque mucilagineuse.

Fig. 2 - G = × 45.000

Le corps mitochondrial apical (cma) se trouve entre le noyau (N) et un tubule de la languette (L).

Fig. 3 - G = × 45.000

Stade plus évolué que celui des fig. 1 et 2. Le noyau (N) contient des fibrilles cinomatiniennes. Un microtubule de la languette (LN)chemine entre la paroi nucléaire (flèche) et la membrane plasmique.

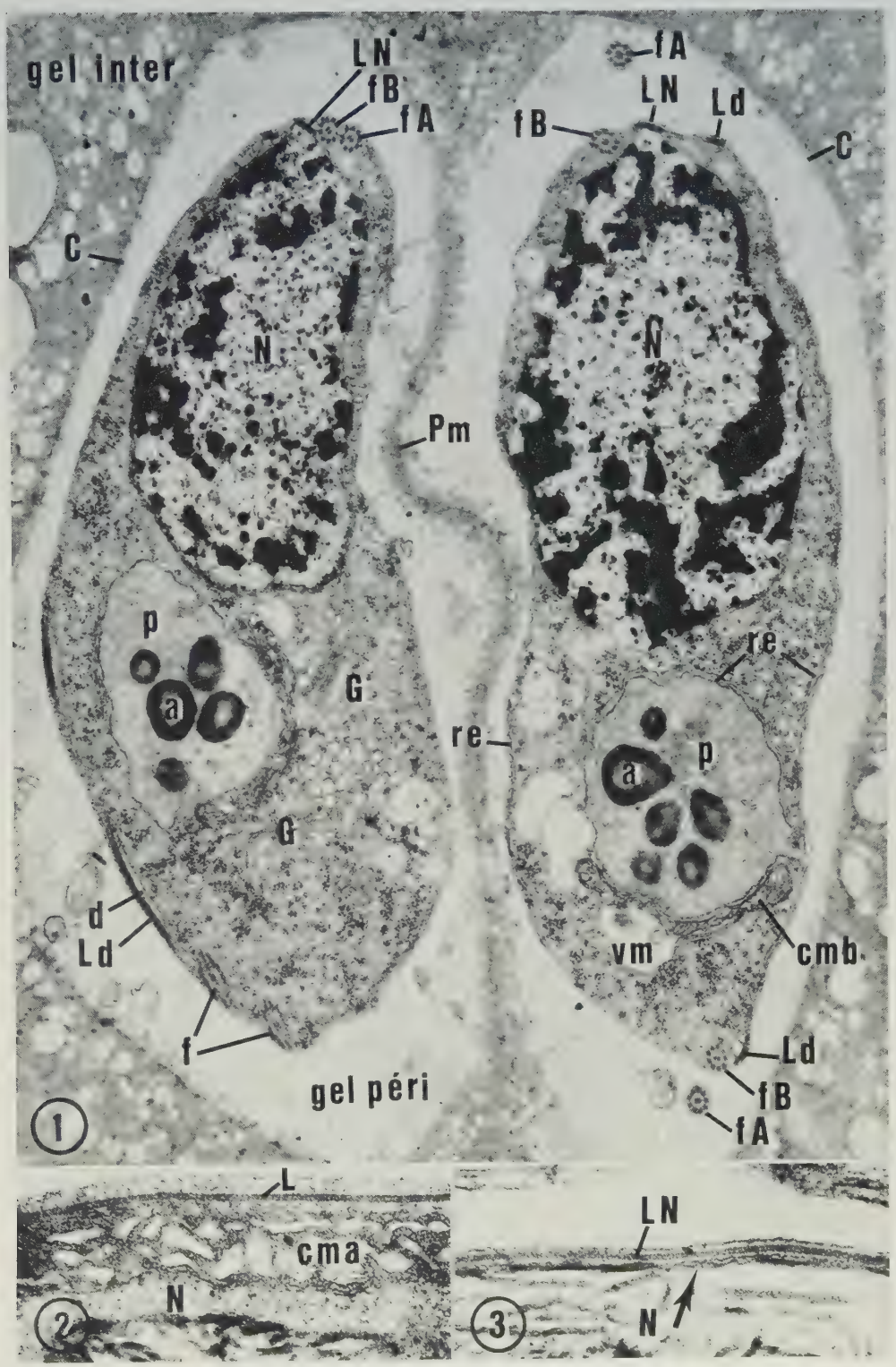

gel inter
LN
fB
fA
C
N
Pm
p
a
G
G
d
Ld
f
gel péri
1
fA
LN
Ld
fB
C
N
re
re
a
p
vm
cmb
Ld
fB
fA
L
cma
N
2
LN
N
3

Planche 29

Pellia epiphylla.- Spermatides.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1 - G = × 14.000

Coupe parallèle au plan d'enroulement du noyau (N). (f), flagelle ; (gel inter), gel intercellulaire ; (gel péri), gel péricellulaire ; (N), noyau ; (vb), vésicule basale.

Fig. 2 - G = 12.000

Coupe oblique par rapport au plan d'enroulement du noyau. Le corps basal, constitué du plaste (p) avec amidon (a) et du corps mitochondrial basal (cmb), est coupé transversalement (il est de forme allongée). Quelques portions de la languette (L) et du corps mitochondrial apical (cma) sont visibles à la périphérie de la cellule. (vb), vésicule basale ; (vm), vésicule du corps mitochondrial basal.

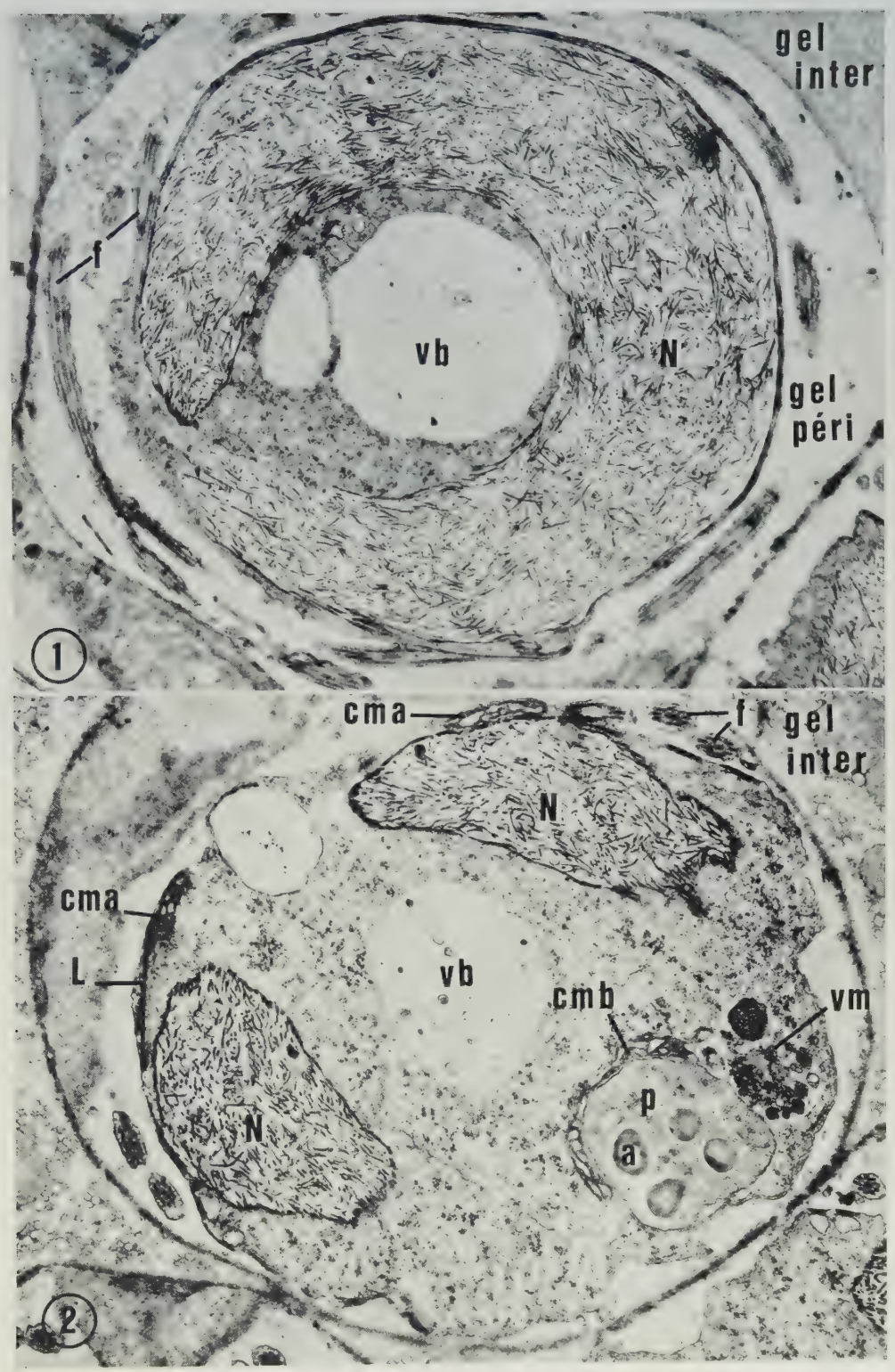

gel
inter
f
vb
N
gel
péri
1
cma
f
gel
inter
N
cma
L
vb
cmb
vm
p
a
N
2

Planche 30

Pellia epiphylla - Spermatide.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 19.000

Remarquer la travée périphérique de reticulum (tp) qui enveloppe la cellule, sauf au niveau de la vésicule basale (vb). Noter la présence de la languette transitoire, constituée de la languette épinucléaire (LN) et de la languette sur diverticules (d et Ld). Le corps mitochondrial basal (cmb), déformé par une vésicule hyaline (vm), est associé au plaste (p). (a), amidon ; (G), dictyosome ; (gel inter), gel intercellulaire ; (gel péri), gel péricellulaire ; (paroi), paroi commune aux deux spermatides.

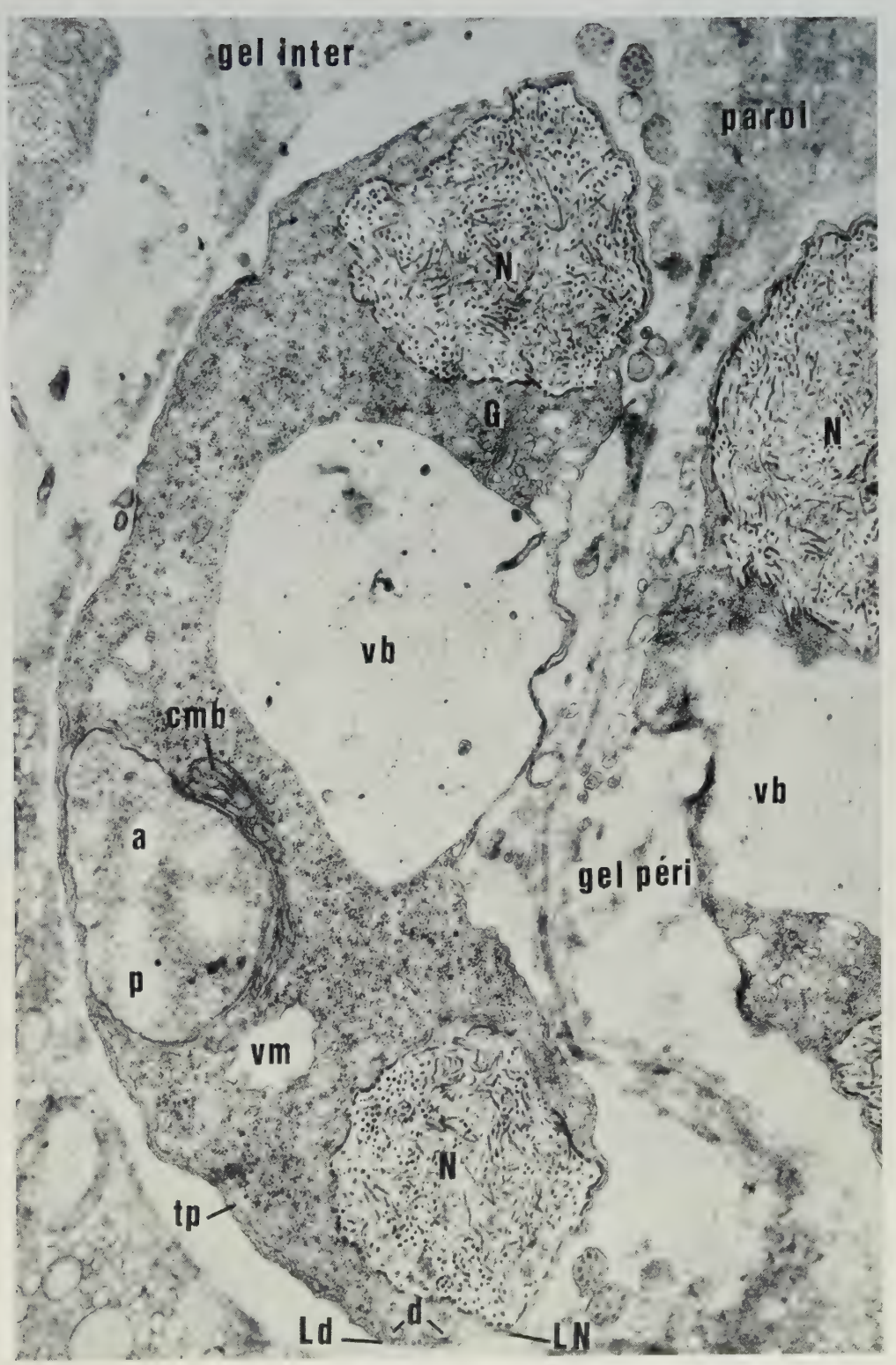

gel inter
paroi
N
G
N
o
vb
cmb
vb
a
gel péri
p
vm
N
tp
Ld
d
LN

Planche 31

Pellia epiphylla.

Fig. 1, 2, 3, 5 - Spermatides avec noyau étiré contenant des fibrilles chromatiniennes.

Fig. 1 - Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = X 30.000

Remarquer la présence d'inclusions amylacées (a) et de globules osmiophiles dans le plaste (p) ainsi que l'existence de nombreuses fibrilles (flèches) entre les lobes voisins du corps mitochondrial basal (cmb), localement déformé par une vésicule (vm). (N), noyau.

Fig. 2 - Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = X 47.000

Noter l'accolement du plaste (p) et du corps mitochondrial basal (cmb) ainsi que l'existence de fibrilles (flèches) entre les digitations voisines du corps mitochondrial. Les espaces intracristaux sont clairs, la matrice est densifiée.

Fig. 3 - Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = X 45.000

Une fibrille (flèche) unit le corps mitochondrial basal (cmb) au plaste (p).

Fig. 5 -Spermatide plus évoluée que celles des fig. 1, 2 et 3.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = X 33.000

Par comparaison avec les fig. 1 et 2, noter l'amenuisement du calibre des lobes du corps mitochondrial basal (cmb) et l'étirement du plaste (p). (a), amidon ; (N), noyau.

Fig. 6 - Spermatozoïde.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = X 22.000

La coupe du plaste (p) a une forme en croissant. (a), amidon.

Fig. 4 - Région postérieure d'une spermatide peu évoluée dont le noyau commence à s'étirer.

Fixation : selon Palade. G = X 52.000

Vacuole autophagique contenant diverses vésicules ainsi que des doubles feuillets.

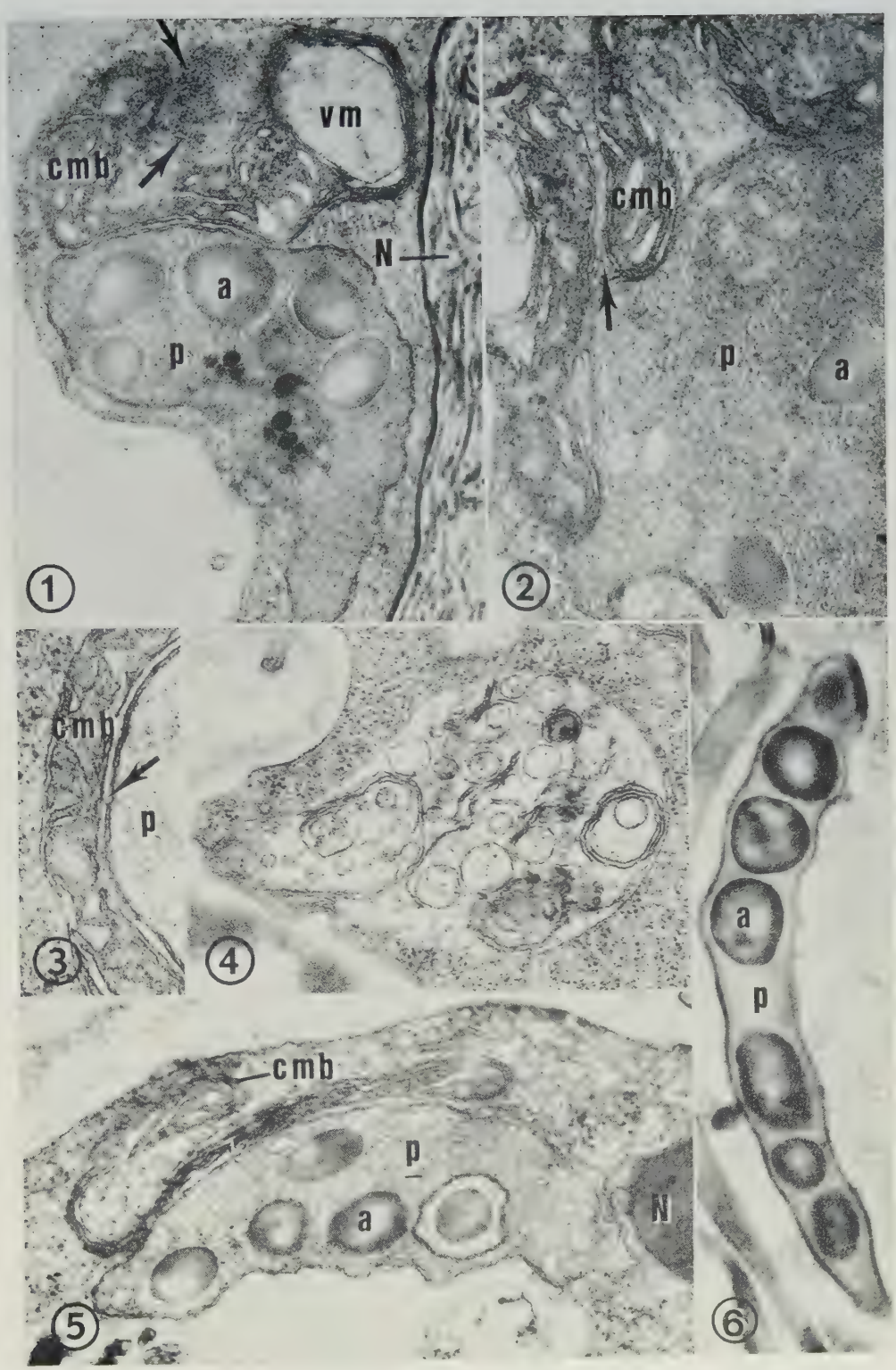

vm
cmb
N
a
p
1
cmb
p
a
2
cmb
p
3
4
a
p
cmb
p
a
N
5
6

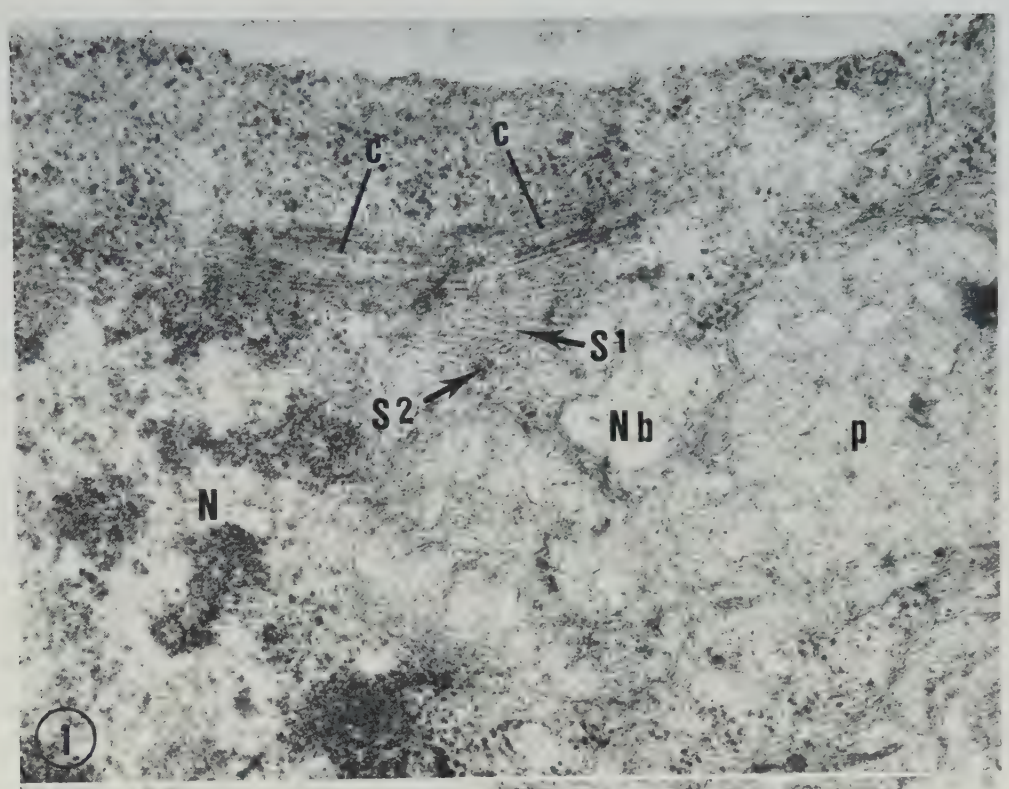
Planche 32

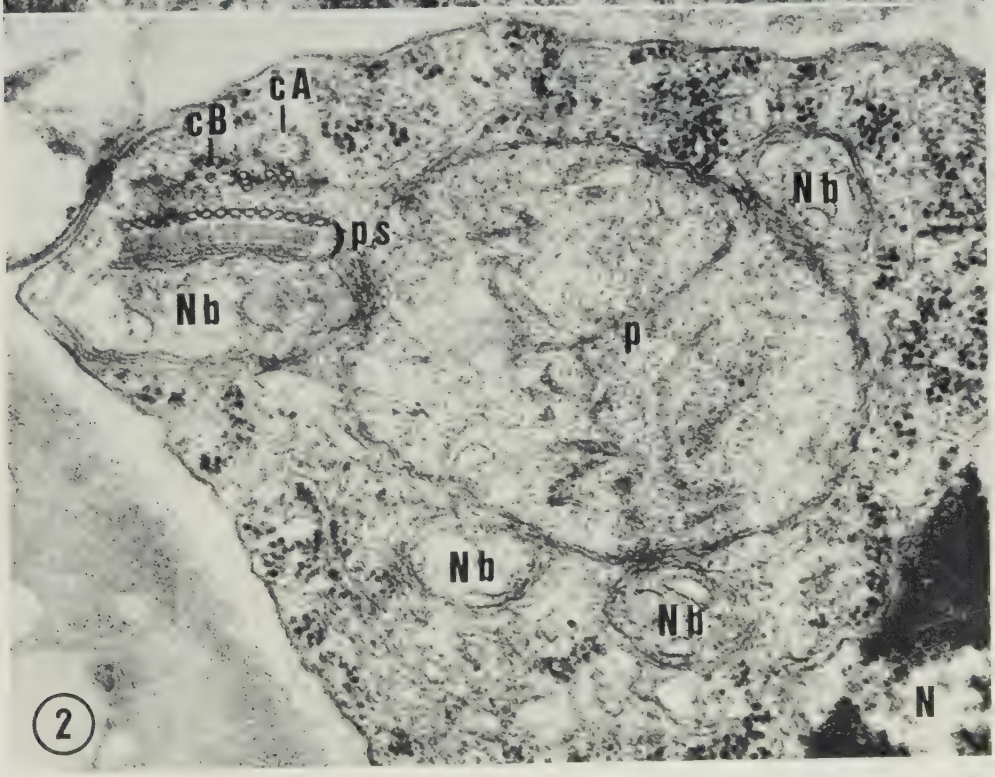
Pellia epiphylla - Spermatide peu évoluée.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 56.000

Fig. 1 - Remarquer l'ébauche de la plaquette stratifiée, qui apparaît ici en coupe tangentielle ; les couches S1 et S2 sont reconnaissables ; elles sont surmontées de 2 cinétosomes (c), dont les axes ne sont pas dans le prolongement l'un de l'autre. Le plaste (p) en cours de condensation se différencie du Nebenkern (Nb) par son stroma plus dense. (N), noyau.

Fig. 2 - Coupe au niveau de la région la plus antérieure des cinétosomes (cA et cB), dont la couronne périphérique ne comporte qu'un seul triplet ; remarquer la présence de l'élément axial et la forme des zones denses constituant la matrice. La plaquette stratifiée (ps), dont la couche supérieure est constituée de 13 ou 14 tubules, repose sur un lobe du Nebenkern (Nb) reconnaissable à sa matrice claire ; cette digitation mitochondriale, ainsi que d'autres, sont au voisinage du plaste (p) en voie de condensation ; des thylacoïdes en cours de désorganisation sont visibles dans le stroma plastidial. (N), noyau.


C
C
S1
S2
Nb
p
N
1


cA
cB
ps
Nb
Nb
p
Nb
Nb
N
2

Conventions communes aux planches 33 à 36

Toutes les micrographies représentant des coupes transversales du complexe apical sont orientées de façon que, la spermatide étant supposée dans l'axe de vision de l'observateur, le pôle apical de la cellule soit dirigé vers celui-ci.

Dans ces conditions,

- chaque flagelle est observée de sa partie basale en direction de son extrémité.

- le bord externe des cellules se trouve à la partie supérieure des micrographies. Les cinétosomes sont plus superficiels que la plaquette stratifiée.

- les triplets de chaque cinétosome sont imbriqués de telle façon que, chaque triplet étant supposé être l'aube d'une roue, la roue tourne dans le sens des aiguilles d'une montre sous l'influence d'une chute de liquide.

- le cinétosome antérieur (cA), coupé avant le cinétosome postérieur (cB), se trouve à droite de ce dernier.

- la languette (L) est à droite de la plaquette stratifiée (ps).

Les coupes longitudinales sont orientées de manière que le côté antérieur se trouve le plus proche de l'observateur ; l'axe antéro-postérieur (A ⟶ B) est alors dirigé de haut en bas, contrairement aux autres vues de spermatides.

Pellia epiphylla.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1, 2, 3 - Spermatides à noyau allongé.

Fig. 1 - G = X 45.000

Portion de noyau contenant des fibrilles chromatiniennes qui s'anastomosent en faisceaux. (nuc), îlot de nucléoplasme.

Fig. 2 - G = X 31.000

Coupe tangentielle de la spermatide. Entre le noyau et les deux groupes de microtubules constituant la fraction Ld de la languette transitoire se trouvent deux diverticules (d) de reticulum.

Fig. 3 - G = X 81.000

Coupe tangentielle de la spermatide. Remarquer le calibre irrégulier des deux diverticules (d). Dans le noyau, les sous-unités sont parallèles et inclinées régulièrement sur l'axe de l'organite. (nuc), îlot de nucléoplasme.

Fig. 4 - G = X 100.000

Spermatide non encore individualisée (plaque cellulaire incomplète). Base du cinétosome antérieur. Remarquer l'absence d'élément axial et la proximité du plasmalemme, du plaste (p) et du noyau (N).

Fig. 5 - G = X 100.000

Spermatide à noyau avec chromocentres. Cinétosome antérieur. Remarquer la zone axiale dense et la zone claire en forme d'étoile. La coupe est perpendiculaire à la couche supérieure de la plaquette stratifiée (ps), constituée ici de 9 tubules : deux tubules voisins sont reliés par une bande (flèches).

Fig. 6 - G = X 100.000

Spermatide à noyau avec chromocentres. Base d'un cinétosome isolé. Coupe au niveau du "motif en roue de charrette" : 9 expansions claires rayonnent à partir d'une zone axiale dense.

Fig. 7 - G = X 100.000

Spermatide à noyau avec chromocentres. Coupe au niveau de la zone de transition du cinétosome postérieur. Il y a 9 doublets périphériques mais pas de doublet axial.

Fig. 8 - G = X 100.000

Spermatide à noyau allongé contenant des fibrilles chromatiniennes. Coupe dans un flagelle. Les deux tubules para-axiaux sont noyés dans une gaine dense, entourée de 9 plages disposées en couronne ; chaque plage est reliée à un doublet périphérique par un rayon d'Afzelius. Certains doublets portent de courts prolongements (flèches).

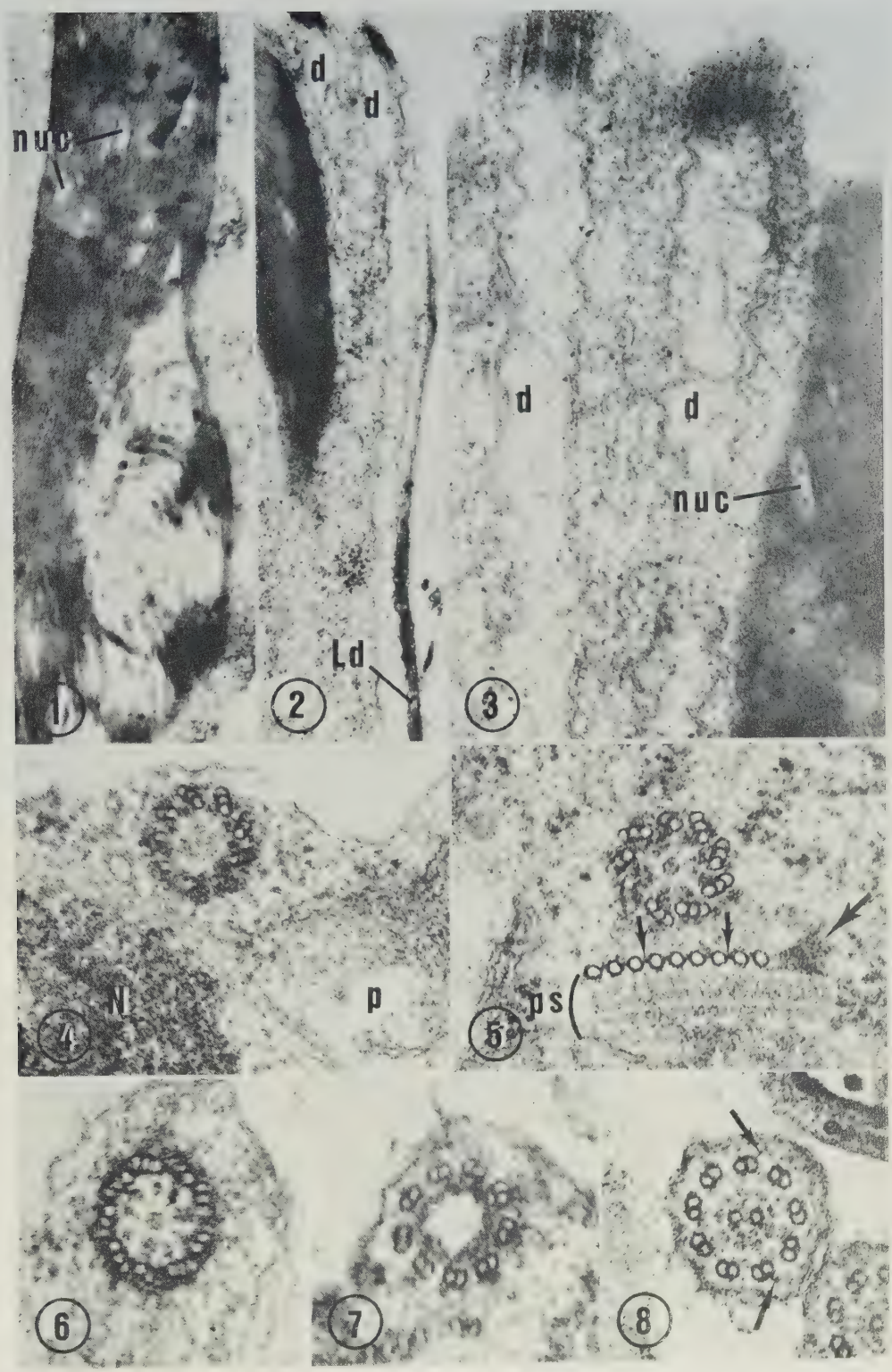

nuc
1
d
d
Ld
2
d
d
nuc
3
N
p
4
ps
5
6
7
8

Planche 34

Pellia epiphylla. Spermatides peu évoluées ; noyau avec chromocentres.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié. G = × 100.000

Fig. 1 : Coupe au niveau d'un triplet du cinétosome antérieur (cA), presque perpendiculaire à la couche S1 de la plaquette stratifiée, ici constituée de 15 tubules. Les couches inférieures de la plaquette sont indistinctes. Le corps mitochondrial apical (cma) sépare la plaquette du noyau (N).

Fig. 2 : Coupe au niveau d'un cinétosome oblique par rapport à la couche S1. Remarquer la structure périodique des couches S2 et S3 de la plaquette stratifiée (ps). (cma), corps mitochondrial apical.

Fig. 3 : Coupe perpendiculaire aux tubules S1 de la plaquette stratifiée, pratiquée au niveau de la région postérieure du cinétosome antérieur (cA) et de 2 triplets du cinétosome postérieur (cB). Noter la faible densité de la matrice dans la digitation du Nebenkern (Nb) accolée à la base de la plaquette stratifiée.

Fig. 4 : Coupe parallèle aux tubules S1. L'axe antéro postérieur (A ⟶ B) mesure 1 µ de longueur. Noter l'inclinaison d'avant en arrière des plans S2 ; les plans S3 apparaissent assez nettement perpendiculaires aux tubules S1 dans la zone soulignée par l'accolade. Remarquer l'extension de la plaquette stratifiée au delà de l'extrémité antérieure du corps mitochondrial (cma). (f), flagelle ou région de transition.

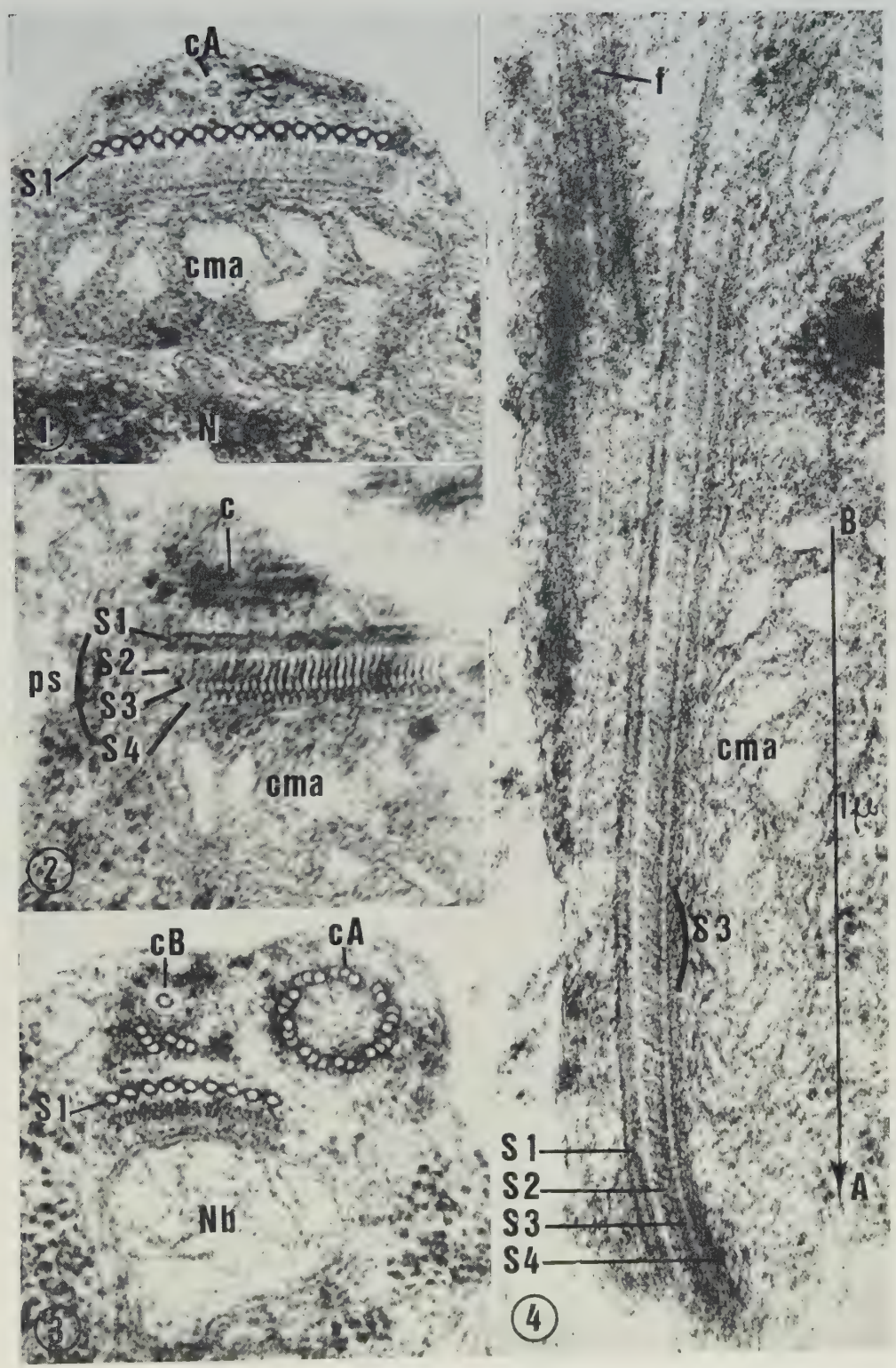

cA
S1
cma
N
1
c
S1
S2
S3
S4
ps
cma
2
cB
cA
S1
Nb
3
f
B
cma
S3
S1
S2
S3
S4
A
4

Planche 35

Pellia epiphylla - Spermatides à noyau avec chromocentres.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1 - G = X 100.000

Coupe au niveau de 3 triplets du cinétosome postérieur (cB). Stade de régression de la plaquette stratifiée. Les couches inférieures ne sont visibles que sous les 7 tubules S1 de gauche ; les 6 de droite s'étendent au-dessus d'une expansion du noyau (N) et constituent la languette transitoire (LT). (cma), corps mitochondrial apical.

Fig. 2 - G = X 50.000

Coupe oblique aux tubules S1, pratiquée dans la partie antérieure de la plaquette stratifiée. Noter l'extension de cette formation au delà de l'extrémité antérieure du corps mitochondrial apical (cma) et la présence de fibrilles dans le cytoplasme (flèches).

Fig. 3 - G = X 85.000

Coupe au niveau de 3 triplets du cinétosome postérieur (cB). Stade de régression de la plaquette stratifiée, dont la trace des couches inférieures désorganisées ne persiste que sous les 3 tubules S1 de gauche ; les autres tubules constituent la languette transitoire (LT). La languette sur diverticule (Ld) est venue se disposer parallèlement au corps apical après avoir encerclé la cellule (voir schéma 8b). (cma), corps mitochondrial apical ; (d), diverticule de reticulum ; (fA), axonème du flagelle antérieur ; (N), noyau.

Fig. 4 - G = X 100.000

Coupe au niveau de l'axonème du flagelle antérieur (fA), de celui du flagelle postérieur (fB) et de la languette sur diverticule (Ld) ; (d), diverticule de reticulum.

Fig. 5 - G = X 100.000

Coupe tangentielle de la plaquette stratifiée. L'axe antéro-postérieur (A ⟶ B) mesure 1 µ de longueur. Les plans S2 sont obliques par rapport aux tubules S1.

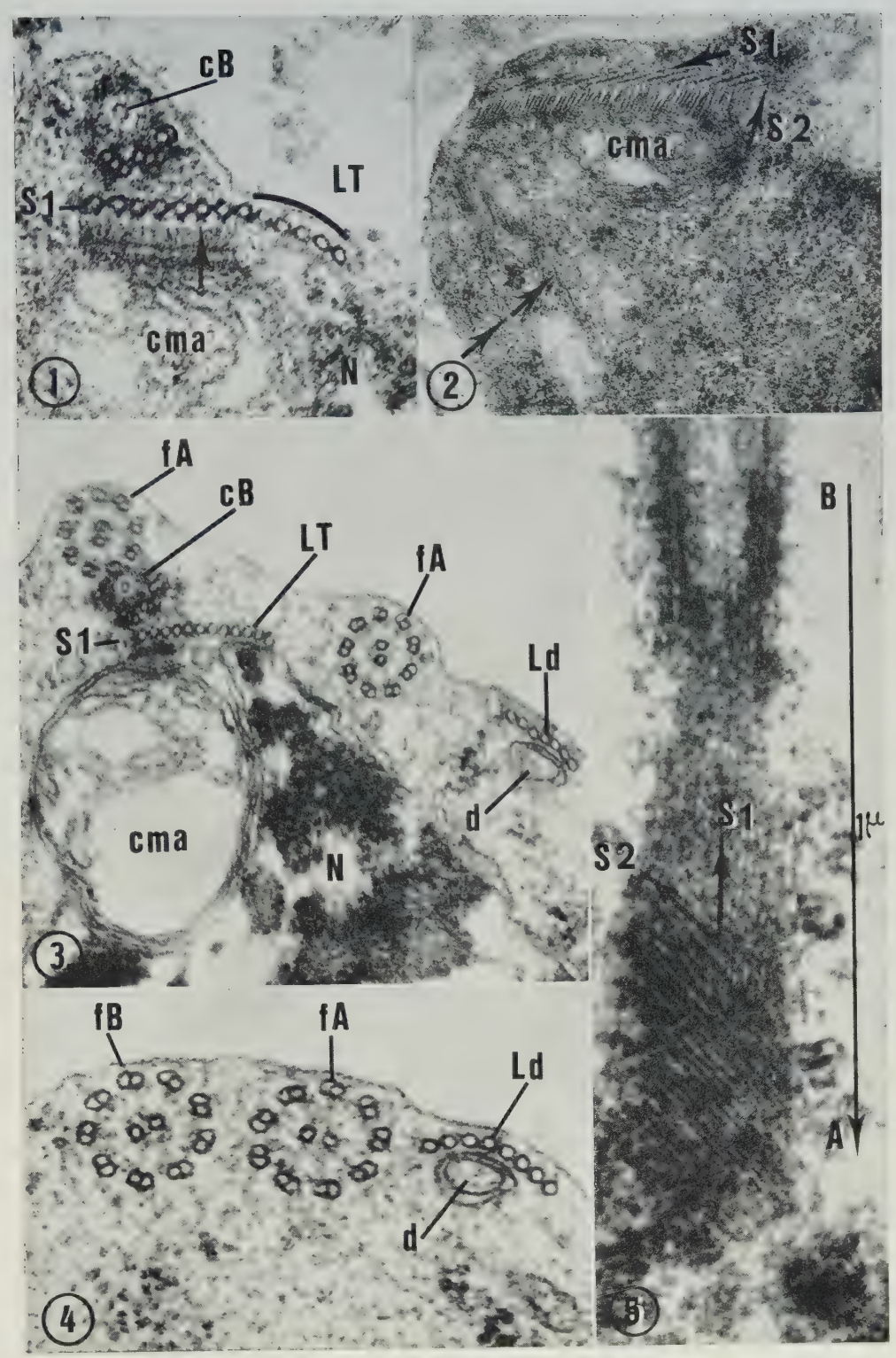

cB
LT
S1
cma
N
1
S1
S2
cma
2
fA
cB
LT
fA
S1
Ld
d
cma
N
3
B
S1
1μ
S2
A
5
fB
fA
Ld
d
4

Planche 36

Pellia epiphylla — Spermatides à noyau étiré.

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Fig. 1 - G = X 50.000

Noyau d'environ 1 tour de spire. Coupe dans une région proche de la bipartition du diverticule unique. Les fibrilles chromatiniennes sont courtes, les fibrilles périphériques sont encore indépendantes. Remarquer la moulure nucléaire surmontée des tubules de la languette épinucléaire ainsi que les 2 diverticules du reticulum (d) surmontés par les tubules de la languette Ld.

Fig. 2 - G = X 50.000

Noyau à 2 tours de spire. Coupe entre les 2 cinétosomes. La première spire du noyau (N1) est dépourvue de nucléoplasme et surmontée par les tubules de la languette définitive (LD) ; la seconde (N2) contient du nucléoplasme et des fibrilles chromatiniennes ; remarquer à son niveau les tubules de la languette épinucléaire (LN) et ceux de la languette sur diverticules (Ld). (cma), corps mitochondrial apical ; (d), diverticules du reticulum ; (f), extrémité d'un flagelle.

Fig. 3 - G = X 50.000

Noyau à 2 tours de spire (N1 et N2). Coupe au niveau du cinétosome postérieur (cB). Remarquer l'aplatissement du corps mitochondrial apical (cma) qui se dispose sur la gauche de la languette définitive (LD) ainsi que les coupes de faisceaux chromatiniens et la présence d'un cortex au niveau de la seconde spire du noyau.

Fig. 4 - G = X 50.000

Noyau à 2 tours de spire (N1 et N2). Coupe au niveau de la région de transition (fB) entre le cinétosome antérieur et son flagelle. Remarquer la structure de cette zone ainsi que l'existence d'une connexion entre la travée périphérique de reticulum (re) et le diverticule externe (d) sous la languette (Ld). (cma), corps mitochondrial apical ; (f), flagelle ; (LD) languette définitive ; (LN), languette épinucléaire ; (LT), languette transitoire.

Fig. 5 - G = X 50.000

Noyau à 2 tours de spire (N1 et N2). Coupe au niveau de la région de transition (fB) entre le cinétosome postérieur et le flagelle. Remarquer la structure hétérogène de la région nucléaire (N1) dépourvue de nucléoplasme. (d), diverticule du reticulum ; (f), flagelle ; (fe), extrémité d'un flagelle ; (Ld) et (LN), les deux parties de la languette transitoire.

Fig. 6 - G = X 125.000

Région du second tour de spire d'un noyau. La disposition des sous-unités est clairement visible dans la fibrille coupée transversalement (flèche). Noter que le cortex a une épaisseur identique au diamètre d'une fibrille et que les sous-unités sombres sont plus abondantes à sa périphérie. Les plages denses sont des coupes de faisceaux : la disposition concentrique des sous-unités de la fibrille n'y est pas reconnaissable.

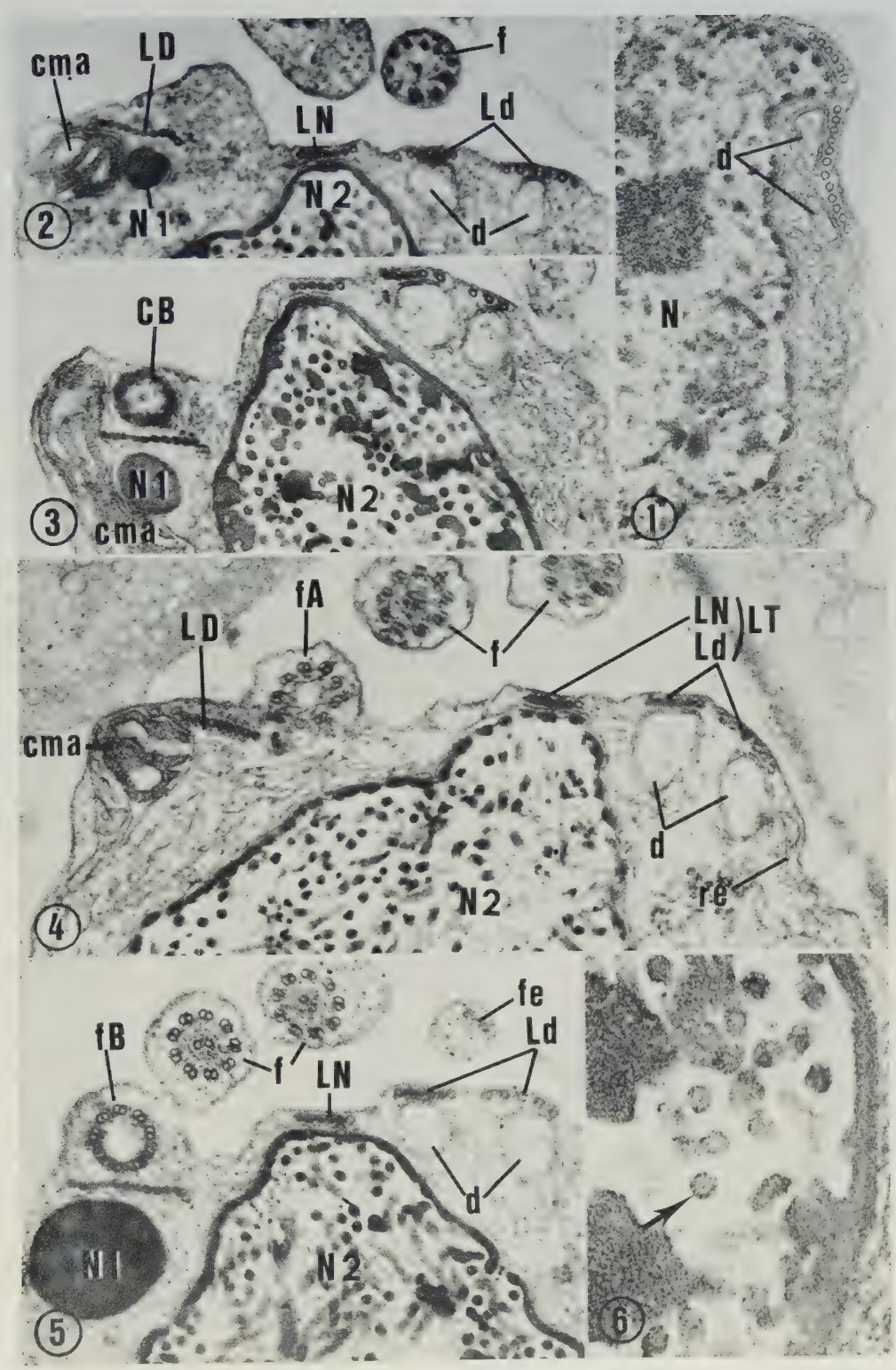

cma
LD
f
LN
Ld
N2
N1
d
2
CB
N1
N2
3
cma
d
N
1
fA
LD
f
LN
LT
Ld
cma
d
N2
re
4
fe
Ld
fB
f
LN
d
N1
N2
5
6

Planche 37

Pellia epiphylla.

Fig. 1 - G = X 18.000

Fixation : Palade saccharosé.

Spermatide en fin d'évolution. Noter l'accumulation du nucléoplasme dans la région postérieure (N4) du noyau et la présence de fibrilles chromatiniennes. Remarquer aussi les plages de pores nucléaires (accolades) et la faible densité des ribosomes cytoplasmiques. (d), diverticule du reticulum ; (Ld) et (LN), languette transitoire.

Fig. 2 - G = X 28.000

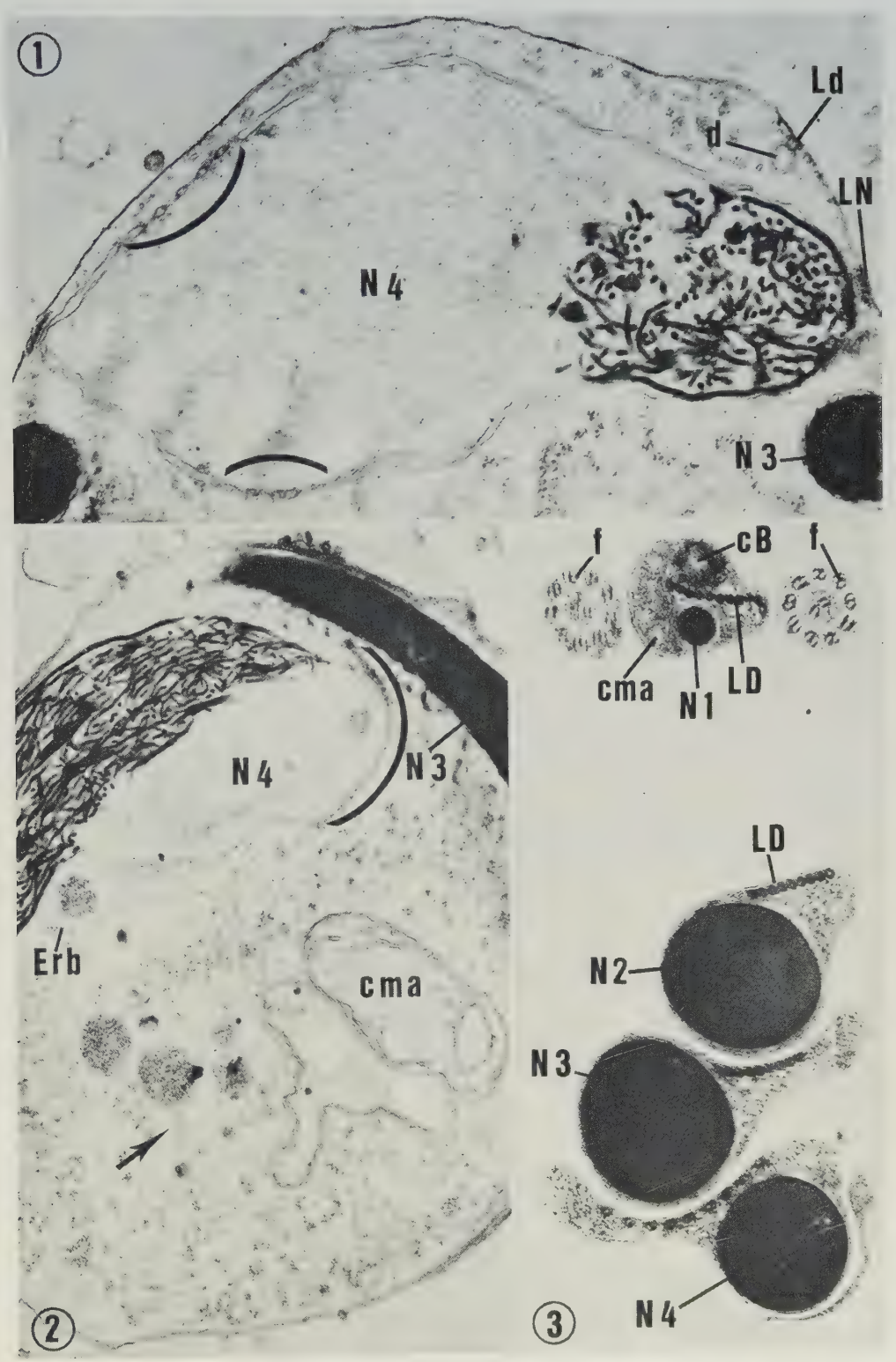
Fixation : Palade saccharosé.

Spermatide en fin d'évolution. Noter l'existence d'une plage percée de pores dans la paroi de la région postérieure (N4) du noyau. Des groupes de ribosomes sont entourés par une membrane (Erb) et ces enclaves sont à leur tour englobées par la vésicule basale (flèche). (cma), corps mitochondrial apical.

Fig. 3 - G = X 58.000

Fixation : glutaraldéhyde postosmié.

Spermatozoïde - Coupe transversale au niveau du cinétosome postérieur (cB). Le noyau accomplissant 3 tours et demi de spire est coupé 4 fois (N1 à N4). Remarquer l'absence complète de nucléoplasme dans le noyau, la persistance de la membrane nucléaire et l'existence d'une couche riche en unités sombres sous la paroi nucléaire. La languette définitive (LD) est contenue dans une expansion latérale du hyaloplasme ; le corps mitochondrial apical (cma) est disposé sur la gauche du noyau et de la languette. (f), flagelle.


①
Ld
d
LN
N4
N3
f
cB
f
cma
N1
LD
N4
N3
Erb
cma
②
LD
N2
N3
N4
③

Vu et approuvé

Bordeaux, le

Le Doyen de la Faculté des Sciences